

**Factores y procesos que afectan la emisión de óxido nitroso en un suelo
pampeano manejado con siembra directa**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Vanina Rosa Noemí Cosentino

Licenciada en Ciencias Biológicas - Universidad de Buenos Aires - 2007

Lugar de trabajo: Instituto de Suelos (INTA) y Catedra de Fertilidad y fertilizantes
(Facultad de Agronomía-UBA)



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina - 2016

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Miguel Ángel Taboada

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

M.Sc. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

Dr. (L'Institut National Polytechnique de Toulouse)

Co-director

José María Paruelo

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

M. Sc. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

Dr (Colorado State University, USA)

Consejero de Estudios

Carina Rosa Alvarez

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

M. Sc. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

Dr. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Miguel Ángel Taboada

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

M.Sc. (Universidad Nacional de Buenos Aires)

Dr. (L'Institut National Polytechnique de Toulouse)

JURADO

Hernán Eduardo Echeverría

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Mar del Plata)

M. Producción Vegetal (Universidad Nacional de Mar del Plata)

JURADO

Guillermo Alberto Studdert

Ing. Agr. (Universidad Nacional de Mar del Plata)

M. Sc. (University of Nebraska-Lincoln)

Dr. (Universidad de Lleida)

JURADO

Carlos Cantero Martínez

Ing. Agr. (Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España)

Dr. (Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España)

Fecha de defensa de la tesis: 17 de noviembre de 2015

A mis papás, por su apoyo permanente y por creer que podía lograrlo.
A Fede, Dante y Lauti, los amores de mi vida, que hacen que todo lo que hago valga la
pena.

Agradecimientos

Quiero expresar mi agradecimiento:

A mi director de tesis, Dr. Miguel Ángel Taboada que me guió y acompañó durante todo el desarrollo de este trabajo, invirtiendo tiempo, esfuerzo y dedicación. Quiero agradecerle también por haberme dado la oportunidad de crecer como persona e investigadora.

A mi co-director, Dr. José María Paruelo por su tiempo y dedicación.

A mi consejera de estudios, Dra. Carina Rosa Alvarez, por su compromiso, predisposición y dedicación.

Al Dr. Flavio Hernán Gutiérrez Boem por su tiempo, perseverancia y dedicación, particularmente en su ayuda con el análisis de datos.

A Santi, sin el cual mis muestreos de campo hubiesen sido mucho más tediosos y aburridos.

A Carolina Bustingorri, María Marta Caffaro, Patricia Fernandez, Diego Cosentino, Florencia Varela, Carina Alvarez, Alejandro Costantini, Mariana Minervini y Filipe Behrends Kraemer por sus aportes en las discusiones dentro y fuera del ámbito de trabajo.

A Patricia Fernández, Lucrecia Brutti, Santiago Figueiro y Gabriela Civeira por su ayuda en los muestreos.

A la familia Cartier por abrirme las puertas de su casa y permitirme trabajar en su campo.

A mis compañeros de cátedra por hacer más amena mi estadía y brindarme un espacio de trabajo.

A todas mis compañeras de oficina por los mates y buenos momentos compartidos.

Al Instituto de Suelos por abrirme las puertas y brindarme un espacio de trabajo.

A Javier, Mariana y Roberto del Instituto de Genética del INTA Castelar por su ayuda con el ensayo de soja.

A los Dres. Claudia P. Jantalia, Bruno J. R. Alves y Segundo Urquiaga por permitirme trabajar con ellos y abrirme las puertas del Laboratorio de EmBraPA Agrobiología, Seropédica, RJ, Brasil.

Al FONCyT, al CONICET, y al INTA por financiar parte de mi trabajo de tesis.

A la Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano de la Facultad de Agronomía de la UBA, por el apoyo recibido.

Al Programa de Centros Asociados de Posgrado (Ciencia de Suelo) financiado por CAPES y SPU, entre la FAUBA y la UFRRJ, por otorgarme la beca que me permitió llevar adelante parte de este trabajo.

A mis amigas, Carolina Bustingorri, María Marta Caffaro, Josefina De Paepe, Mariana Minervini y Ana Muzlera por brindarme su amistad, contención y apoyo siempre.

A mi mamá y a mi suegra, por cuidar de Dante y a Lauti durante mis viajes al campo, a congresos y a reuniones.

A Fede, a Dante, a Lauti y al Gordo, por ser mi familia y por brindarme su apoyo incondicional.

En especial a mis papás sin los cuales yo no sería quien soy.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Publicaciones derivadas de la tesis

Revistas con referato:

Cosentino, V.R.N., Figueiro Aureggi, S.A. and Taboada M.A. 2013. Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. European Journal Soil Science, 64: 550-557.

Cosentino, V.R.N., Fernandez P.L., Figueiro Aureggi S.A. and Taboada, M.A. 2012. N₂O emissions from a cultivated mollisol: optimal time of day for sampling and the role of soil temperature. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 36: 1814-1819.

Cosentino, V.R.N., Brutti, L.N., Civeira, G. y Taboada, M.A. 2015. Aporte de la fijación biológica de nitrógeno a las emisiones de N₂O desde el cultivo de soja. Ciencia del Suelo. En prensa.

Índice General

Índice de figuras.....	ix
Índice de cuadros.....	xii
Índice de fotos.....	xiii
Abreviaturas.....	xiv
Resumen.....	xv
Abstract.....	xvii
Capítulo 1. Introducción general.....	1
1.1 Emisión de N ₂ O.....	3
1.2 Relevancia de la tesis.....	7
1.3 Hipótesis general.....	8
1.4 Objetivo general.....	8
1.5 Abordaje del estudio.....	8
1.6 Características de la región estudiada.....	9
1.7 Área de estudio.....	9
1.8 Relevancia de los resultados obtenidos.....	9
Capítulo 2. Determinación del horario del día óptimo para coleccionar muestras de N₂O en un suelo bajo siembra directa.....	11
2.1 Introducción.....	13
2.2 Hipótesis.....	15
2.3 Objetivos.....	15
2.4 Materiales y Métodos.....	15
2.4.1 Área de estudio.....	15
2.4.2 Evolución de la emisión de N ₂ O a lo largo del día.....	15
2.4.3 Determinación de la emisión de N ₂ O.....	16
2.4.3.1 Calculo de la emisión de N ₂ O.....	18
2.4.4 Temperatura del suelo y del aire, y propiedades edáficas.....	18
2.5 Análisis estadístico.....	19
2.6 Resultados.....	19
2.7 Discusión.....	24
2.8 Conclusiones.....	26
Capítulo 3. Jerarquización de las variables reguladoras de la emisión de N₂O: influencia de la ubicación en el lote.....	27
3.1 Introducción.....	29
3.2 Hipótesis.....	30
3.3 Objetivos.....	31
3.4 Materiales y Métodos.....	31
3.4.1 Área de estudio.....	31
3.4.2 Diseño experimental.....	31
3.4.3 Determinaciones iniciales.....	34
3.4.4 Determinación de la emisión de N ₂ O.....	35
3.4.5 Otras determinaciones.....	36
3.5 Análisis estadístico.....	36
3.6 Resultados.....	37
3.6.1 Propiedades edáficas, detección de estructuras desfavorables y propiedades físicas del suelo.....	37
3.6.2 Análisis de las principales variables que regulan la emisión de N ₂ O a campo.....	42

3.7 Discusión.....	48
3.8 Conclusiones.....	51
Capítulo 4. Aporte a la emisión de N ₂ O desde el suelo con cultivo de soja nodulante y no nodulante.....	53
4.1 Introducción.....	55
4.2 Hipótesis.....	56
4.3 Objetivo.....	56
4.4 Materiales y Métodos.....	56
4.4.1 Área de estudio.....	56
4.4.2 Diseño experimental.....	56
4.4.3 Determinación de la emisión de N ₂ O.....	57
4.4.4 Otras determinaciones.....	57
4.5 Análisis estadístico.....	57
4.6 Resultados.....	58
4.7 Discusión.....	63
4.8 Conclusiones.....	66
Capítulo 5. Influencia de la calidad del rastrojo y el grado de contacto con el suelo sobre la emisión de N ₂ O.....	67
5.1 Introducción.....	69
5.2 Hipótesis.....	70
5.3 Objetivos.....	70
5.4 Materiales y Métodos.....	71
5.4.1 Diseño experimental.....	71
5.4.2 Determinación de la emisión de N ₂ O.....	72
5.4.3 Otras determinaciones.....	74
5.5 Análisis estadístico.....	74
5.6 Resultados.....	75
5.7 Discusión.....	83
5.8 Conclusiones.....	86
Capítulo 6. Discusión, conclusión general y opciones a futuro.....	87
6.1 Introducción.....	89
6.2 Principales hallazgos.....	90
6.3 Implicancias practicas-metodologías.....	91
6.4 Opciones de mitigación y recomendaciones futuras.....	93
6.5 futuras líneas de investigación.....	94
Bibliografía.....	95

Índice de figuras

Figura 1.1. Esquema del proceso de nitrificación en el suelo. Proceso mediante el cual el amonio (NH_4^+) es oxidado a nitrato (NO_3^-), pasando previamente por nitrito (NO_2^-), durante este proceso parte del NO_2^- no llega a ser completamente oxidado y es liberado a la atmosfera como óxido nitroso (N_2O) (Robertson y Groffman, 2007).....	3
Figura 1.2. Esquema del proceso de desnitrificación en el suelo. Proceso mediante el cual el nitrato es reducido a nitrógeno gaseoso (N_2) pasando previamente por otras formas de nitrógeno como nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N_2O). Los compuestos nitrogenados gaseosos son reducidos rápidamente y liberados a la atmosfera (Robertson y Groffman, 2007).....	4
Figura 1.3. Emisión de los principales gases derivados de los procesos de nitrificación y desnitrificación en función del porcentaje del espacio poroso saturado de agua. En gris se muestra la producción de N_2O , las líneas paralelas representan las emisiones derivadas del proceso de desnitrificación mientras que el resto de las emisiones corresponden al proceso de nitrificación(adaptado de Davidson, 1991).....	6
Figura 2.1. Fotografías de la cámara utilizada para el muestreo del N_2O .La cámara está formada por dos partes: A) Cámara plástica, que es colocada al momento de la toma de las muestras y luego es removida y B) Base de hierro, la cual es clavada en el suelo al menos 24h antes de muestreo del N_2O	16
Figura 2.2. Bomba de vacío desde diferentes ángulos. A) vista lateral. B) Vista posterior, se observa cómo es colocado el vial. C) Vista posterior, muestra el manómetro utilizado para generar siempre la misma presión de vacío dentro del vial...	27
Figura 2.3. Relación entre la tasa de emisión de óxido nitroso (N_2O) y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO_3^-) del suelo (A); y el espacio poroso saturado de agua (EPSA) (B) para las cinco cámaras de estudio. Los puntos (15) representan el valor de cada día (3) y cada cámara (5).....	20
Figura 2.4. Temperatura del suelo y del aire para las diferentes horas del día a los largo de los tres días de estudio.	20
Figura 2.5. Emisión de óxido nitroso (N_2O ; círculo lleno) y temperatura del suelo (círculo vacío) para las diferentes horas del día a los largo de los tres días de muestreo. Los círculos llenos indican el promedio de emisión de N_2O de las cinco cámaras y las barras verticales representan el error estándar. La figura muestra el ciclo de emisión de N_2O con máximos a la hora 3:00 (óvalos) y mínimos a las 15:00 y a las 18:00 h (cuadrados) y el ciclo de la temperatura del suelo. Las fechas muestran el pico diario de temperatura.....	21
Figura 2.6. Dinámica de la emisión de óxido nitroso (N_2O) a lo largo del día. Los círculos representan la media horaria de las cinco cámaras y los tres días de medición y las barras verticales indican el error estándar. La línea horizontal corresponde a la media diaria ($88,6 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$).....	22
Figura 2.7. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N_2O) media diaria y la emisión de N_2O media horaria para cada hora de muestreo. Cada punto sobre el eje y representa el valor promedio diario de emisión de N_2O de una cámara (5), de un día (3) y de los ocho momentos de muestreo diario, mientras que cada punto sobre el eje x representa el valor de emisión de N_2O de una cámara (5) y de un día (3). La línea punteada representa la relación 1:1 entre la media diaria y la media horaria, mientras que la línea continua representa el mejor ajuste de los valores observados entre la media diaria y la media horaria. El valor del R^2 indica el coeficiente de determinación de la recta y el valor de p indica el nivel de significancia con el cual los puntos se ajustan a la recta para cada horario de medición.....	23

Figura 2.8. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N_2O) y la temperatura del aire (A) y del suelo (B), las barras representan el error estándar.....	24
Figura 3.1. Distribución espacial de los lotes experimentales dentro del campo (A) y ubicación de las cámaras dentro de cada lote (B). Los cuadros grises corresponden a la secuencia de cultivo 1 mientras que los negros corresponden a la secuencia 2.....	34
Figura 3.2. Densidad aparente para las diferentes ubicaciones dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y la secuencia 2 (D, E y F). El Asterisco representa una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el valor de la densidad aparente entre los niveles de tratamientos.....	38
Figura 3.3. Tasa de infiltración en función de la ubicación dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y para la secuencia 2 (D, E y F). El asterisco representa una diferencia significativa ($p < 0,05$) en las tasas de infiltración entre los niveles de tratamientos.....	39
Figura 3.4. Resistencia a la penetración en función de la ubicación dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y para la secuencia 2 (D, E y F). El asterisco representa una diferencia significativa ($p < 0,05$) en la resistencia a la penetración entre los niveles de tratamientos.....	40
Figura 3.5. Variación del espacio poroso saturado de agua (EPSA) en función del tiempo para tres muestras de suelo intacto de cabecera y centro de lote. Para los tres casos la diferencia entre las pendientes fue altamente significativa ($p < 0,001$).....	41
Figura 3.6. Relación entre la emisión de N_2O en el Centro y en la Cabecera del lote. Dentro del gráfico se presenta la ecuación de la recta con su respectivo ajuste y nivel de significancia. La recta punteada representa la relación 1:1. Ambas rectas no difirieron estadísticamente ($p = 0,6161$).....	42
Figura 3.7. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del espacio poroso saturado de agua (EPSA) (A), concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$)(B) y temperatura del suelo (C).....	43
Figura 3.8. Relación entre el EPSA y la temperatura del suelo.....	44
Figura 3.9. Resultados del análisis de árbol de regresión, mostrando las principales variables que afectan la emisión de óxido nitroso (N_2O) y sus valores umbral.....	45
Figura 3.10. Emisión de óxido nitroso (N_2O) durante el período de estudio para ambas secuencias de cultivos (barras). Las líneas verticales con límite máximo por encima de cada barra representan el error estándar. Los valores por encima de las barras corresponden a la emisión de N_2O media y a sus respectivos (errores estándar). Debajo de cada gráfico, se muestran los valores medios y (errores estándar) para la temperatura del suelo, el espacio poroso saturado de agua (EPSA) y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo.	46
Figura 3.11. Relación entre la emisión de N_2O y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo para diferentes cultivos y residuos. A, B y C: Alta de emisión de N_2O (grupo III, Figura 3.10). D, E y F: emisión moderada de N_2O (grupo II, Figura 3.10). Dentro de los gráficos se presenta la ecuación de la recta con su respectivo ajuste y nivel de significancia.....	47
Figura 4.1. A) Espacio poroso saturado de agua (EPSA) en porcentaje y B) temperatura del suelo en función del tiempo en días después de la siembra. En A) las líneas verticales representan el error estándar.....	60
Figura 4.2. Cambios en la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo en función del tiempo en días después de la siembra para los tratamientos con soja nodulante (NOD) y no nodulante (no NOD). Se ajustó un modelo “lineal-meseta” en el	

tratamiento NOD, en el cual la recta de ajuste fue construida utilizando los datos de las tres primeras fechas de muestreo, y un modelo lineal en el tratamiento no NOD utilizando los datos de las cuatro fechas de muestreo. Las pendientes de las rectas que ajustaron los datos de los tratamientos no presentan diferencias significativas entre sí ($p = 0,87$). Las líneas verticales representan el error estándar.....	61
Figura 4.3. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del tiempo en días después de la siembra. Las líneas verticales representan el error estándar. La línea horizontal marca el cero en la emisión de N_2O	62
Figura 4.4. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función de la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$). NOD corresponde a las plantas nodulantes y No NOD a las plantas no nodulantes. Las líneas verticales representan el error estándar.....	62
Figura 4.5. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del espacio poroso saturado de agua (EPSA) expresado en porcentaje. NOD corresponde a las plantas nodulantes y No NOD a las plantas no nodulantes. Las líneas verticales representan el error estándar.....	63
Figura 5.1. Diseño esquemático del ensayo. Para cada una de las macetas el color marrón representa el suelo, mientras que el verde representa el rastrojo <i>en superficie</i> (sobre el suelo) o <i>incorporado</i> (mezclado con el suelo).....	72
Figura 5.2. Esquema de la cámara colectora de N_2O . La base de la cámara fue la maceta con su correspondiente tratamiento, mientras que la parte superior (cámara plástica) fue otra maceta exactamente igual colocada sobre la maceta con el tratamiento, ambas macetas permanecieron unidas y selladas (por un sistema de encastre a presión) durante el tiempo que duró la toma de las muestras de N_2O	73
Figura 5.3. A) Espacio poroso saturado de agua (EPSA) y B) la temperatura del suelo en función del tiempo de muestreo. En A) La línea horizontal marca el 60% del EPSA. Las líneas verticales representan el error estándar.	75
Figura 5.4. Rastrojo remanente en función del tiempo de muestro. Las líneas verticales representan el error estándar.....	76
Figura 5.5. Diferencia entre la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del tratamiento con rastrojo y el suelo sin rastrojo en función del tiempo. La línea horizontal marca el cero en la concentración de $N-NO_3^-$. Las líneas verticales representan el error estándar.....	78
Figura 5.6. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del espacio poroso saturado de agua expresado en porcentaje (EPSA %), para el muestreo correspondiente al día 1.....	79
Figura 5.7. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del tiempo de muestro y su respectiva área para los diferentes tratamientos.....	80
Figura 5.8. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función de la concentración denitrógeno en forma de nitrato($N-NO_3^-$) del suelo (A) y del espacio poroso saturado de agua expresado en porcentaje (EPSA %, B).	81
Figura 5.9. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función dela concentración de nitrógeno en forma de nitrato($N-NO_3^-$) del suelo cuando el espacio poroso saturado de agua (EPSA) superó el 77%. Los valores de emisión de N_2O correspondientes al día 1no fueron incluidos para este análisis.....	82
Figura 6.1. Diagrama del racional de la tesis y sus principales hallazgos (cuadros rojos).....	89

Índice de cuadros

Cuadro 2.1. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N_2O) media diaria y la emisión de N_2O media horaria, para las horas del día cuyos valores ajustaron a una recta ($p < 0,001$). $y = ax + b$, donde a es la pendiente de la regresión; b es la ordenada al origen (b); R^2 es el coeficiente de determinación de la recta horaria y p indica el nivel de significancia con el cual la recta horaria difiere de la recta 1:1.....	24
Cuadro 3.1. Esquema de las dos secuencias de cultivos durante los dos años de muestreo. La secuencia 1 comenzó con un rastrojo de soja de primera y fue: rastrojo de soja de primera – trigo/soja de segunda – maíz; mientras que la secuencia 2 comenzó con un rastrojo de soja de segunda y fue: rastrojo de soja de segunda – maíz – soja de primera. Las cruces corresponden al momento en el que fue realizada una o más de las siguientes tareas: toma de muestras, siembra, fertilización nitrogenada y cosecha. rast. = rastrojo.....	33
Cuadro 5.1. Concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo y su respectivo error estándar para los diferentes tratamientos.....	77
Cuadro 5.2. Emisión media de óxido nitroso (N_2O) y su respectivo error estándar correspondiente al día 1 para los diferentes tratamientos.....	78

Índice de fotos

Foto 4.1. Fotografía de una plántula de soja nodulante 27 días después de la siembra (A), acercamiento sobre la zona de la raíz mostrando la presencia de los primeros nódulos (B).....	52
Foto 4.2. Fotografía de las plántulas nodulantes y de las no nodulantes correspondientes a la primera (A, estadio V_1) y segunda fecha de muestreo (B, estadio V_{2-3}) según la escala de Fehr y Caviness (1977). La línea roja muestra la división entre los tratamientos.....	59
Foto 4.3. A) Fotografía de las planta nodulantes (NOD) y B) de las no nodulantes (No NOD) correspondientes a la tercera fecha de muestreo. La línea roja muestras la división entre los tratamientos.....	53

Abreviaturas

A	Área de suelo cubierta por la cámara
CH ₄	Metano
CHg	Contenido hídrico gravimétrico
CHv	Contenido de hídrico volumétrico
CO	Carbono orgánico
CO ₂	Dióxido de Carbono
Dap	Densidad Aparente
DCA	Diseño Completamente Aleatorizado
ΔC	Cambio en la concentración
Δt	Cambio en el tiempo
EPSA	Espacio Poroso Saturado de Agua
GEI	Gases de Efecto Invernadero
GWP	Global Warming Potential (Poder de Calentamiento Global)
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change (Panel Intergubernamental para el Cambio Climático)
LC	Labranza Convencional
N	Nitrógeno
N ₂	Nitrógeno atmosférico
N ₂ O	Óxido Nitroso
NH ₄ ⁺	Amonio
N-NO ₃ ⁻	Nitrógeno en forma de nitrato
NO ₃ ⁻	Nitrato
O ₂	Oxígeno atmosférico
OMC	Organización Mundial del Comercio
PO	Pampa Ondulada
ppb	Partes por billón
PT	Porosidad total
SD	Siembra Directa
V	Volumen de la cámara

Resumen

El óxido nitroso (N_2O) es el principal gas de efecto invernadero (GEI) generado por la agricultura y posee un poder de calentamiento global 298 veces mayor que el dióxido de carbono (CO_2). La Segunda Comunicación Nacional para el Cambio Climático de la Argentina ubica al sector agrícola en segundo lugar en importancia entre los sectores emisores de GEIs. Existe escasa información en el país sobre valores reales de emisión de N_2O medidos a campo. Diferentes condiciones climáticas, ambientales y de manejo hacen variar la dirección e intensidad de las variables reguladoras, haciendo que la emisión de N_2O varíe en espacio y tiempo. Por otra parte, tampoco se sabe cómo se ordenan las variables que regulan la emisión de N_2O desde el suelo. Dado el carácter pionero de la cuantificación de la emisión de N_2O en nuestro país, un primer objetivo fue determinar el momento del día más representativo para medición. Para ello se realizó un ensayo a campo, en el cual se determinó el momento más representativo de la emisión media diaria que fue 9-12 am. Una vez ajustada la hora de muestreo, se realizó un ensayo bianual en un campo de la Pampa Ondulada (PO) con el objetivo de analizar la variación estacional de la emisión de N_2O y las variables que la determinan. Se logró jerarquizar tres de las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O : el contenido de nitrato (NO_3^-), la temperatura del suelo y el espacio poroso saturado de agua (EPSA), para las cuales se obtuvieron sus valores umbral y se confeccionó un árbol de decisión. La emisión de N_2O fue baja cuando la temperatura del suelo fue inferior a 14°C (invierno), moderada cuando la temperatura del suelo superó los 14°C pero el EPSA fue inferior al 60% (verano) y alta cuando la temperatura del suelo superó los 14°C y el EPSA el 60% (primavera y otoño). En otro ensayo de campo se evaluó la influencia de nódulos en el cultivo de soja sobre la cantidad de N_2O que es emitida por el cultivo de soja durante su crecimiento. Para ello, se recurrió al uso de cultivares de soja no nodulantes. Los resultados de este ensayo indican que la presencia de nódulos en las raíces del cultivo de soja no contribuyó significativamente a la emisión de N_2O . Finalmente, en un ensayo en invernáculo se evaluó el impacto de la calidad (C/N) y el contacto entre el rastrojo y el suelo sobre la emisión de N_2O . Los resultados indicaron que el contacto suelo-residuo fue el principal factor determinante de la emisión de N_2O ya que al cabo de cinco meses el rastrojo en superficie emitió más N_2O que el rastrojo incorporado. Los resultados de esta tesis permitieron hacer avanzar la frontera del conocimiento en los mecanismos de emisión de N_2O desde el suelo, en los siguientes aspectos: a) se determinó el momento más representativo de la emisión media diaria, conocimiento que es actualmente tomado por otros investigadores al momento de realizar sus mediciones y b) se jerarquizaron tres de las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O , conocimiento novedoso y potencialmente extrapolable a otras situaciones con similares condiciones edafo-climáticas. La aplicación de estos resultados puede ser también relevante para elegir el momento óptimo para realizar la fertilización o el riego, o decidir la intensidad y distribución en la toma de muestras a lo largo del año, permitiendo ahorrar tiempo y esfuerzo de muestreo. Se observó que, a lo largo del año existen periodos de baja, nula o negativa emisión, lo cual hace pensar en extensos periodos del año con valores de emisión de N_2O menores a los calculados por defecto a partir de los cálculos del Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC). Estos resultados pueden ser útiles para reconsiderar los

factores de emisión del IPCC para suelos de clima templado. Los avances surgidos de esta tesis pueden ser utilizados para diseñar experimentos de largo plazo que permitan generar factores de emisión de N₂O específicos para el país. Se propone este como el paso siguiente que debiera tomar esta línea de investigación.

Palabras clave: jerarquía, siembra directa, estructura laminar, valor umbral.

Abstract

Nitrous oxide (N_2O) is the main greenhouse gas (GHG) generated by agriculture and has a global warming potential 298 times higher than carbon dioxide (CO_2). The Second National Communication on Climate Change Argentina ranks the agricultural sector as second in importance among the sectors emitting GHGs. There is poor information in the country on N_2O emissions values measured at field conditions. Different climatic, environmental and management conditions may vary the direction and intensity of these factors, causing great variations of N_2O emissions in space and time. Moreover, it is still little known the order or hierarchy by which the factors regulating the N_2O emission of from soils are ordered. Taking into account the lack of basic information on the quantification N_2O emissions in our country, the first objective consisted in performing methodological adjustments. A field trial was conducted to obtain the most representative daily emission average, which was found to occur between 9 and 12 am. In order to analyze the seasonal variation of the N_2O emission and its determinants factors, another field trial was conducted during two years in the Rolling Pampa (RP). The main finding was ranking the three main regulatory variables of N_2O emissions nitrate concentration (NO_3), topsoil temperature and water-filled pore space, (EPSA). Their threshold values were also determined and a decision tree was then obtained. Small N_2O emissions occurred when soil temperature was lower than 14°C (winter), medium or moderate N_2O emissions were when soil temperature was higher than 14°C but EPSA was lower than 60% (summer) and large emissions occurred when soil temperature was higher than 14°C and EPSA was higher than 60% (spring and fall). Another field test was conducted to evaluate the influence of the process of biological nitrogen fixation (BNF) on the amount of N_2O emitted by soybean crop during its growth period. The use of non nodulating soybean cultivars can be considered an innovative experimental approach in this thesis. The results of this study indicate the process of BNF not to contribute significantly to N_2O emissions. Finally, a greenhouse experiment was conducted to investigate the impact of quality (C/N) and the soil-residue contact on N_2O emissions. Results indicate soil-residue contact to be the main determinant factor of N_2O emissions, as after five months of experiment surface deposited residues emitted more N_2O than crop residues buried and mixed with the soil. As a main conclusion, results of this thesis helped to advance the frontier of knowledge on the mechanic of N_2O emissions from soils in the following aspects: a) the more representative N_2O daily emission averages here obtained is an original finding, which is taken into account by other authors in their researcher; b) three main regulatory variables of N_2O emissions were hierarchized, new knowledge and potentially transferable to other countries with similar edapho-climatic conditions. Application of results can be also relevant, as for example when proposing indications for optimum time for fertilization and irrigation, or when deciding the intensity and distribution of N_2O sampling throughout the year. This could save time and effort in getting N_2O emission samples. This thesis found that throughout the year there were periods of low, zero or negative N_2O emissions, which suggests long periods of the year with N_2O emission values lower than the calculated default from the calculations of the Intergovernmental Panel on climate Change (IPCC). These results may be useful to reconsider the N_2O emission factors for soils of temperate climates from the IPCC. The

results raised from this thesis can be used to design future long-term N₂O emission experiments, which can provide emission factors for our country. It is proposed the further long-term experiment setting be the next research step line that should be taken.

Key words: hierarchy, no-tilled, laminar structure, threshold value.

Capítulo 1. Introducción general

1.1 Emisión de N₂O

Se denominan gases de efecto invernadero (GEI) a aquellos gases que poseen la capacidad de absorber la radiación infrarroja emitida por la superficie de la tierra, contribuyendo de esta manera al calentamiento global. Dentro de este grupo se encuentran, entre otros, el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O). El CO₂ es el GEI que absorbe la menor cantidad de radiación y, por lo tanto, presenta un potencial de calentamiento (Global Warming Potential, GWP) de referencia cuyo valor es 1, mientras que el N₂O posee un GWP 298 veces mayor al del CO₂ (IPCC 2007). Esto significa que para una misma masa, el N₂O absorbe una cantidad de calor 298 veces mayor que el CO₂ lo que genera un mayor impacto del N₂O en términos de carbono equivalente (IPCC, 2007).

La concentración atmosférica de N₂O aumentó entre el 40 y el 50% desde la época pre-industrial hasta la actualidad, pasando de alrededor de 270 partes por billón (ppb) a 319 ppb (Snyder et al., 2009). Actualmente el N₂O es uno de los GEIs al que se le presta mayor atención, pues es el principal GEI emitido por el sector agropecuario. En nuestro país, el sector agropecuario es responsable del 43% de las emisiones, siendo el 21% correspondiente al sector agrícola (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, 2014). El N₂O posee un tiempo de vida media en la atmósfera de 114 años (IPCC, 2001; Bracmort, 2010) y contribuye a la degradación de la capa de ozono estratosférico responsable de filtrar los rayos solares ultravioletas (Del Grosso et al., 2008).

La producción biológica del N₂O en el suelo se genera por dos vías, la nitrificación y la desnitrificación. La nitrificación es un proceso aeróbico, mediante el cual el amonio (NH₄⁺) es oxidado a nitrato (NO₃⁻). Este proceso suele ser el principal responsable de la emisión de N₂O en suelos aireados (Robertson y Groffman, 2007; **Figura 1.1**).

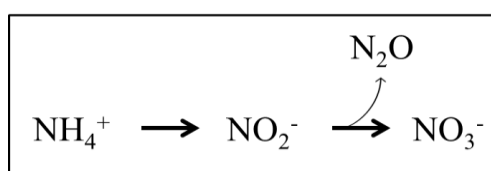


Figura 1.1. Esquema del proceso de nitrificación en el suelo. Proceso mediante el cual el amonio (NH₄⁺) es oxidado a nitrato (NO₃⁻), pasando previamente por nitrito (NO₂⁻). Durante este proceso parte del NO₂⁻ no llega a ser completamente oxidado y es liberado a la atmósfera como óxido nitroso (N₂O) (Robertson y Groffman, 2007).

En condiciones aeróbicas, el oxígeno (O₂) es el principal aceptor de electrones en los procesos de óxido-reducción. En ausencia de O₂, por ejemplo, cuando el suelo se encuentra anegado, su rol como aceptor es tomado por los denominados “aceptores secundarios de electrones”. Los aceptores secundarios intervienen en la secuencia reductiva, ordenados por su potencial redox. La primera cupla redox que interviene en ausencia de O₂, es la integrada por NO₃⁻-N₂, donde NO₃⁻ acepta los electrones donados por la materia orgánica del suelo en el proceso de reducción microbiana. Este proceso se conoce con el nombre de desnitrificación, y es realizado por microorganismos

anaeróbicos facultativos, de baja especificidad (Glinski y Stepniewski 1985; Robertson y Groffman, 2007; **Figura 1.2**). La nitrificación y la desnitrificación son los principales procesos microbianos que participan en la producción de N_2O desde el suelo y se encuentran afectados por la disponibilidad de nitrógeno (N), la temperatura, el contenido de agua y el contenido de O_2 en el suelo, entre otros factores (Steenwerth y Belina, 2008).

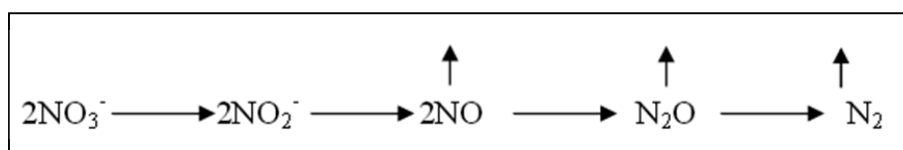


Figura 1.2. Esquema del proceso de desnitrificación en el suelo. Proceso mediante el cual el nitrato (NO_3^-) es reducido a nitrógeno gaseoso (N_2) pasando previamente por otras formas de nitrógeno como nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO) y óxido nitroso (N_2O). Los compuestos nitrogenados gaseosos son reducidos rápidamente y liberados a la atmósfera (Robertson y Groffman, 2007).

El flujo de N_2O entre el suelo y la atmósfera es el resultado de tres procesos básicos: la producción, el consumo y el transporte (Conrad, 1996). La producción de N_2O depende de la cantidad de sustrato disponible para los microorganismos. El consumo está relacionado con la concentración de N_2O en la matriz del suelo, cuanto mayor es la cantidad de N_2O mayor es su disponibilidad para ser reducido a N_2 . Finalmente, el transporte y la liberación hacia la atmósfera se relacionan principalmente con la capacidad del N_2O de atravesar la matriz, la cual depende de la impedancia del suelo (Chapuis-Lardy et al., 2007). Cuando la producción y el transporte del N_2O son más rápidos que el consumo, el N_2O es liberado y su tasa es positiva. Cuando esto ocurre decimos que hay emisión de N_2O . Asimismo, cuando la producción y el consumo se igualan, la tasa es cero, es decir, no hay emisión de N_2O . Finalmente, cuando la tasa de consumo supera la tasa de producción del gas esto da como resultado tasas negativas. Cuando esto ocurre decimos que hay absorción de N_2O desde el suelo (SoaneyVan Ouwerkerk, 1995). Que la emisión o absorción de N_2O desde el suelo ocurran, depende de las condiciones del suelo.

Generalmente la tasa de producción de N_2O desde el suelo es mayor a la tasa de consumo, por lo que la mayoría de los estudios se concentran en la producción neta de N_2O (ej. Dobbie y Smith, 2001; Almaraz et al., 2009) y abandonan los estudios de consumo neto (es decir, flujos negativos de N_2O). Sin embargo, el suelo puede actuar como sumidero de N_2O , al menos temporalmente (Ryden, 1981). El consumo neto de N_2O se ha reportado en diferentes ecosistemas, incluidos pastizales y bosques (Cavigelli y Robertson, 2001; Glatzel y Stahr, 2001; Butterbach-Bahl et al., 2002). Los flujos negativos son frecuentes por lo que no pueden simplemente ser descartados como ruido experimental. No obstante, los factores que regulan el consumo de N_2O no son aún bien conocidos. Los trabajos sobre consumo neto de N_2O , sugieren que pensar el suelo como un sumidero de N_2O bajo determinadas condiciones, podría ayudar a explicar el actual desequilibrio en los presupuestos globales de emisión de N_2O estimados hacia la atmósfera (Chapuis-Lardy et al., 2007).

Existe gran controversia sobre cuál de las variables es la principal reguladora de la emisión de N_2O . Algunos autores mencionan a la humedad del suelo como la principal variable reguladora (Shelton et al., 2000; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern, 2004). Asimismo, otros atribuyen la regulación de la emisión de N_2O a la temperatura del suelo (Dobbie y Smith, 2001; Almaraz et al., 2009). Sumado a esto, diferentes autores observaron distinta forma de regular la emisión de N_2O , midiendo la misma variable.

En relación a la humedad de suelo podemos mencionar a Shelton et al. (2000) quienes encontraron una relación lineal entre la emisión de N_2O y el contenido de agua, cuando éste se encontró entre 60% del espacio poroso saturado de agua (EPSA) y saturación (100% EPSA). Mientras que Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern (2004) observaron emisión de N_2O máxima en el rango de 80-95% del EPSA, con la disminución de la tasa por encima del 95% del EPSA. Asimismo, si nos referimos a cómo la temperatura afecta la emisión de N_2O , podemos mencionar a Dobbie y Smith (2001), quienes observaron una relación positiva entre la emisión de N_2O y la temperatura del suelo, cuando el porcentaje de EPSA se mantuvo elevado. Esto se opone a lo encontrado por Almaraz et al. (2009) quienes observaron una relación negativa entre las dos variables.

La tasa de emisión de N_2O depende de la suma de las variables requeridas por las poblaciones microbianas del suelo para llevar a cabo los procesos de formación del N_2O . Por esto, cuando una o más de estas variables reguladoras se ven negativamente afectadas, la emisión de N_2O probablemente disminuya. La teoría de la estequiometría ecológica es un modelo conceptual que analiza los balances elementales en los organismos vivos y la forma en que estos balances afectan a los niveles tróficos y sus interacciones. La teoría de estequiometría ecológica provee un marco conceptual integral que relaciona los ciclos biogeoquímicos desde una escala global a una fisiológica (Hessen et al., 2004; Moe et al., 2005). Por ello, el desarrollo de estos conceptos se ha centrado mayoritariamente sobre los organismos, su respuesta a la estequiometría de los recursos, sus interacciones de unos con otros y su influencia en los ciclos biogeoquímicos.

La emisión de N_2O desde el suelo también se ve afectada por la concentración de O_2 . A medida que aumenta el porcentaje de EPSA, el contenido de O_2 del suelo disminuye y el proceso de desnitrificación comienza a aumentar su importancia relativa sobre el de nitrificación (**Figura 1.3**). La tasa de desnitrificación alcanza su pico máximo cuando el EPSA supera el 70%, situación en que el total de las emisiones de N_2O son producidas por dicho proceso (Bateman y Baggs, 2005). Las condiciones anaeróbicas, producidas por alto porcentaje de agua en los poros, son propias de suelos con drenaje deficiente. Un ejemplo de ello, son los suelos que se encuentran en los bajos que, debido a la proximidad con la napa freática, sufren anegamiento por el ascenso de la misma en los períodos de lluvias abundantes (Glinski y Stepniewski, 1985; Taboada y Panuska, 1985; Taboada y Lavado, 1986).

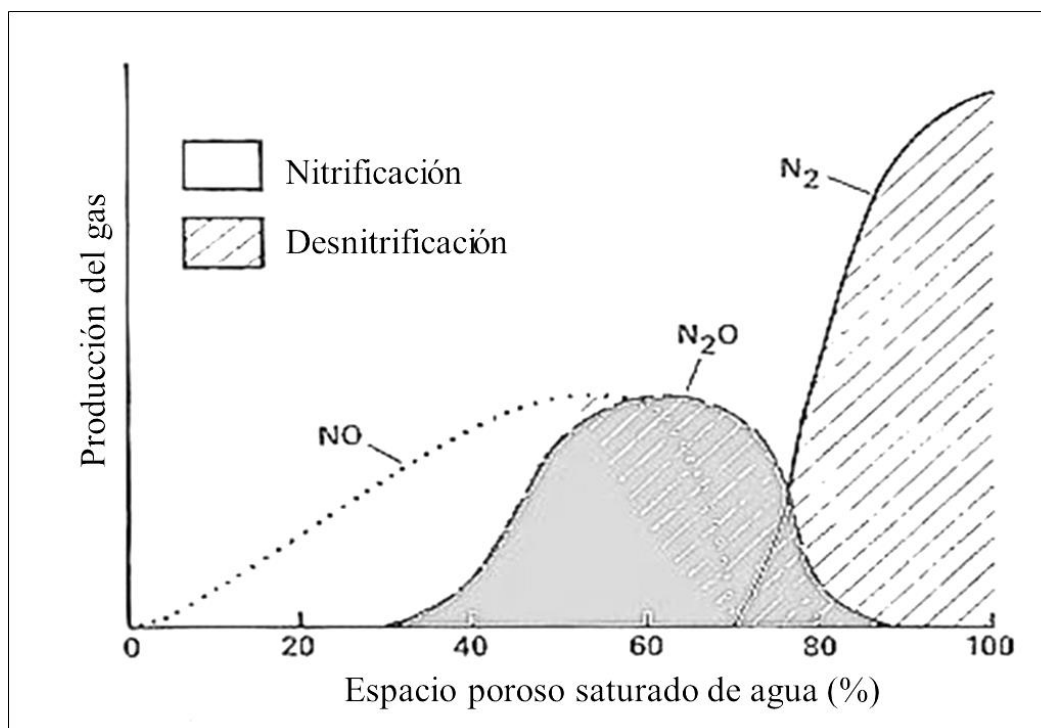


Figura 1.3. Emisión de los principales gases derivados de los procesos de nitrificación y desnitrificación en función del porcentaje del espacio poroso saturado de agua. En gris se muestra la producción de N_2O , las líneas paralelas representan las emisiones derivadas del proceso de desnitrificación mientras que el resto de las emisiones corresponden al proceso de nitrificación (adaptado de Davidson, 1991).

Las condiciones anaeróbicas han sido consideradas raras de hallar en suelos agrícolas como los Hapludoles y los Argiudoles Típicos prevalecientes en la Región Pampeana (INTA, 2014). Por esto, resultaría novedoso el hallazgo de condiciones de anaerobiosis en suelos manejados bajo siembra directa (SD), generadas por problemas de drenaje causados por la presencia de estructura desfavorables como las de tipo laminar y masiva (Sasal et al., 2006; Alvarez et al., 2009).

La presencia de estructuras desfavorables en suelos manejados con SD suele estar asociada a la pérdida de macroporos por falta de laboreo (Bonel et al. 2005; Sasal et al. 2006). Esto produce en el suelo asentamiento y consolidación, formando una estructura plana con claro dominio de la porosidad horizontal (VandenBygaart et al., 1999). Generalmente son los ciclos de congelamiento-descongelamiento y/o los de humedecimiento-secado los factores abióticos responsables de la formación de la estructura laminar. Esto ocurre debido a la expansión y contracción del suelo (VandenBygaart et al., 1999). En la región Pampeana la presencia de estructuras de tipo desfavorable han sido relacionada a condiciones de tránsito intenso de maquinarias agrícolas y a largos períodos sin cultivo (barbecho) (Álvarez et al., 2014).

Los suelos de la Pampa Ondulada poseen minerales de arcilla del tipo de las ilitas de baja capacidad de expansión. Sin embargo, algunos resultados recientes mostraron que, a pesar de su carácter limoso, estos suelos tienen capacidad expansión durante los ciclos de humectación-secado (Taboada et al. 2004, 2008).

Las estructuras laminares y/o masivas pueden poseer serias consecuencias ambientales hasta ahora poco conocidas, dado que podrían afectar los procesos de nitrificación y desnitrificación, favoreciendo la formación de N_2O . Este potencial aumento de la emisión de N_2O en suelos manejados con SD aumentaría la discusión acerca de la capacidad de la SD para mitigar los efectos del cambio climático global.

La concentración de NO_3^- del suelo es un importante factor regulador de la emisión de N_2O . Por esto, la dinámica de la liberación de NO_3^- desde el residuo en descomposición afecta la emisión de N_2O . La tasa y la cantidad de nutrientes ciclados a través del proceso de mineralización, son influenciados principalmente por la relación C/N del residuo que se descompone y el tiempo que el residuo está en contacto con el microambiente del suelo (Baker et al., 2001). La descomposición es usualmente más rápida cuando la concentración de N en el residuo se incrementa y, por lo tanto, la relación C/N disminuye (Jensen et al., 2005). Durante la descomposición, los residuos de los cultivos dejan disponible diferentes formas de N para el cultivo siguiente (Mayer et al., 2003). El residuo del cultivo leguminoso usualmente genera mayor cantidad de N, que el residuo del cultivo no leguminoso. Por este motivo, evaluar la emisión de N_2O desde residuo de distinta calidad y ubicación dentro del suelo contribuirá a disminuir estas controversias.

Por otra parte, para nuestro país, obtener valores de emisión de N_2O propios, es de gran importancia. Cuando un país no posee sus propios valores de emisión debe estimarlos siguiendo la metodología generada por el Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC) a partir de datos de otros países con condiciones edafoclimáticas similares a las suyas. Sin embargo, existe gran controversia sobre si la metodología propuesta por el IPCC (IPCC 1996; 2001) para estimar la emisión de N_2O sobrestima o no los valores reales de emisión, con especial controversia sobre el doble conteo en la emisión de N_2O desde los cultivos leguminosos (ej. soja (*Glycine max* L. Merrill). Por un lado, autores como Rochette y Janzen (2005), observaron mayor emisión de N_2O en cultivos leguminosos, la cual fue atribuida a los exudados radicales ricos en N que son liberados por sus raíces. Por otro lado, autores como Jantalia et al. (2008) no observaron diferencias significativas en la tasa de emisión de N_2O desde cultivo leguminoso y no leguminoso. Por lo tanto, realizar mediciones a campo podría ayudar a decidir si la metodología del IPCC sobrestima o no la emisión de N_2O desde estos cultivos.

1.2 Relevancia de la tesis

La presente tesis intenta hacer avanzar el estado del conocimiento acerca de la emisión de N_2O en suelos agrícolas manejados con SD. La emisión de N_2O es producida por procesos microbianos, los cuales se encuentran afectados por variables ambientales. En esta tesis se desea establecer si existe o no alguna jerarquía entre los factores reguladores de los procesos de emisión de N_2O . La importancia estratégica del tema radica principalmente en: a) la ausencia de valores de emisión de N_2O propios medidos a campo y b) la controversia acerca de cómo se ordenan las variables reguladoras de la emisión de N_2O . Otros aspectos escasamente explorados sobre los cuales se despiertan muchos interrogantes, es la influencia del tipo de estructura del suelo (laminar o masiva), del cultivo (leguminoso o no leguminoso), de la calidad del

rastrajo y del grado de contacto entre el rastrojo y el suelo sobre la emisión de N_2O . Los resultados obtenidos aportarán datos para elaborar un modelo de tipo conceptual que permita jerarquizar los factores que regulan la emisión de N_2O desde suelos manejados con SD. Por último, pero no menor, dada la escasez de antecedentes locales sobre el tema, aún no se encuentra definido cuál es el horario del día que mejor representa los valores medios de emisión de N_2O en los suelos pampeanos, este será el primer aspecto a encarar en esta tesis.

1.3 Hipótesis general

La hipótesis de trabajo de la cual se parte es la existencia de un orden jerárquico en el que intervienen las variables reguladoras de la emisión de N_2O . La diferente frecuencia de aparición de estructuras desfavorables (laminar y/o masiva) dentro de un mismo lote, causada por la diferente intensidad de tránsito agrícola es otro factor que afecta la emisión de N_2O .

1.4 Objetivo general

El objetivo general de la tesis consistió en evaluar a campo el efecto de las principales variables que regulan la emisión de N_2O y establecer entre ellas un orden jerárquico de importancia. Por otro lado, se deseó evaluar los efectos generados sobre la emisión de N_2O por algunas de sus variables reguladoras como el tipo de cultivo, la calidad del rastrojo, su grado de contacto con el suelo y la ubicación dentro del lote de campo. Para cumplir con el objetivo general, la tesis tiene un primer objetivo parcial, consistente en resolver cuestiones metodológicas básicas del muestreo de este gas en el campo, aún no resueltas para las condiciones de la Pampa Ondulada (PO). A partir de allí, se pretende avanzar sobre uno de los objetivos centrales de la tesis, que apunta a explicar el modo de acción de las variables reguladoras de los procesos generadores de N_2O en condiciones de campo. Finalmente, se desea investigar bajo condiciones controladas y semi-controladas, el aporte en la emisión de N_2O desde la rizosfera del cultivo de soja nodulante y no nodulante; y la influencia que ejercen la calidad del residuo y el contacto entre el residuo y el suelo sobre la emisión de N_2O .

1.5 Abordaje del estudio

La tesis se dividirá en cuatro Capítulos: a) selección del momento de muestreo a campo; b) estudio de las variables reguladoras de la emisión de N_2O en un campo típico de la Región de la PO; c) estimación de la proporción de N_2O emitido desde la rizosfera de un cultivo leguminoso (soja). Para ello, se realizó un ensayo en el campo experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) en Castelar; y d) un ensayo en invernáculo para comparar la emisión de N_2O desde el residuo de un cultivo leguminoso versus el residuo de un cultivo no leguminoso cuando los mismos se encuentran en superficie o incorporados al suelo.

1.6 Características de la región estudiada

La Región de la PO, es una planicie cuya superficie es de 5 Mha aproximadamente. Su relieve es suavemente ondulado, bien drenado y provisto por una red de valles fluviales, afluentes del Río de la Plata y el Río Paraná (Miñarro y Bilenca, 2008). Presenta clima templado con un promedio anual de precipitaciones de 940 mm concentradas mayormente en primavera y verano, y posee una temperatura media anual de 17°C (Soriano et al., 1991). En esta Región se encuentran gran parte de los suelos más productivos y posee la historia agrícola más antigua del país, pues estuvo asociada a las primeras corrientes inmigratorias. Entre las principales comunidades vegetales originales podemos incluir las correspondientes a los géneros *Stipa*, *Paspalum*, *Piptochaetium* y *Aristida*. Sin embargo, desde el comienzo del Siglo XX es imposible encontrar estas comunidades de pastizales en su forma prístina (Miñarro y Bilenca, 2008). Los suelos de la PO presentan un gradiente textural, encontrándose en general las texturas francas hacia el oeste (Argiudoles Típicos), y las franco limosas y franco arcillo limosas en el este (Argiudoles Típicos, Abrúpticos y Vérticos) (Salazar Lea Plaza y Moscatelli, 1989).

1.7 Área de estudio

Para cumplir con los objetivos correspondientes a los Capítulos 2 y 3 de esta tesis se trabajó en un establecimiento agropecuario (Ea. La Solita) del partido de Chivilcoy, provincia de Buenos Aires. En esta zona los suelos prevalecientes son Argiudoles Típicos, Familia Franco Fina de la serie O'Higgins (INTA, 2014). En el caso del Capítulo 5 se realizó un ensayo en condiciones semi-controladas en invernáculo. Finalmente, el ensayo correspondiente al Capítulo 4 de la tesis se realizó en un suelo Argiudol Vértico perteneciente al campo experimental del INTA en Castelar, provincia de Buenos Aires.

1.8 Relevancia de los resultados obtenidos

Los resultados de esta tesis generarán respuestas a algunos de los interrogantes que surgen del inventario GEI de la Argentina (Gobierno Argentino, 2007). Este inventario fue realizado en base a factores de emisión establecidos por defecto por el IPCC (IPCC, 1996; 2001), sin ningún control de campo. Dada la escasez de información sobre el tema, principalmente local, se incluyeron también aspectos metodológicos referidos al muestreo del N₂O a campo. Con especial interés en los cultivos y rastrojos tanto de cultivos leguminosos como no leguminosos.

Capítulo 2. Determinación del horario del día óptimo para colectar muestras de N₂O en un suelo bajo siembra directa

*Publicación derivada de este capítulo: Cosentino, V.R.N., Fernandez, P.L., Figueiro
Aureggi, S.A. y Taboada, M.A. 2012. N₂O emissions from a cultivated mollisol: optimal
time of day for sampling and the role of soil temperature Revista Brasileira de Ciência
do Solo 36: 1814-1819.*

2.1 Introducción

La SD es el sistema de labranza que predomina en gran parte de la Región Pampeana, alcanzando las 25 millones de hectáreas en 2009 (Hang et al., 2011; AAPRESID, 2014). El sistema de SD es considerado efectivo para contribuir a prevenir pérdidas de suelo por erosión y conservar agua en los suelos, pero está cuestionado su potencial para mitigar el cambio climático y secuestrar C en los suelos (Díaz-Zorita et al., 2002; Bolliger et al., 2006; Steinbach y Alvarez, 2006; Lal et al., 2007; Domínguez et al., 2009; Powlson et al., 2014). Sumado a esto, la SD a menudo provoca formas estructurales poco favorables en superficie causadas por el tránsito de maquinarias, como son las estructuras masivas o laminares (Bonel et al., 2005; Alvarez et al., 2006; Sasal et al., 2006). Estas estructuras se caracterizan por poseer predominancia de poros horizontales (Bonel et al., 2005; Sasal et al., 2006; Alvarez et al., 2009), lo que posiblemente disminuya la tasa de difusión del N_2O hacia la atmósfera, retrasando la emisión de la producción.

La tasa de producción de N_2O depende de los procesos de nitrificación y de desnitrificación. Esta tasa varía en función del contenido hídrico, la disponibilidad de NO_3^- y la temperatura del suelo entre otros factores, siendo su participación en el proceso distinta según diferentes autores (Dobbie y Smith, 2001; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern, 2004; Jantalia et al., 2008). Sin embargo, debido a que el contenido de humedad y la disponibilidad de NO_3^- del suelo no presentan variaciones diarias tan marcadas como la temperatura, es esta última variable la que parecería estar regulando los cambios en la emisión de N_2O que ocurren a lo largo del día (Jantalia et al., 2008).

Varios estudios han encontrado estrecha relación entre la variación diurna en la temperatura del aire y la emisión de N_2O , con un patrón general de mayor emisión durante el día y menor emisión durante la noche, acompañando la tendencia de la temperatura del suelo (Ryden et al., 1978; Denmead et al., 1979; Akiyama et al. 2000). Sin embargo, otros autores no han observado esta relación (Blackmer et al., 1982; Chao et al., 2000; Du et al., 2006), e incluso han demostrado desfase entre variación térmica y la emisión de N_2O a lo largo del día (Thomson et al., 1997). Ryden et al. (1978) sugirieron que la emisión de N_2O podría medirse en cualquier momento del día mientras se evite medir en el horario de la tarde, momento en el cual se produce un pico en la emisión de N_2O en coincidencia con la máxima temperatura diaria. Alves et al. (2012) realizaron un trabajo llevado a cabo en Escocia y Brasil con cámaras automáticas y manuales respectivamente. Estos autores sugieren que en ambos países, a pesar de las condiciones climáticas contrastantes, el momento del día en el cual el valor de emisión de N_2O representa la media diaria, es el mismo (9-10 a.m. y 9-10 p.m.).

Laville et al. (2011) realizaron un ensayo a campo en Francia con cámaras automáticas, en el cual siguieron la emisión de N_2O con una frecuencia de muestreo de una hora y media, durante 10 días. Ellos observaron que cuando la temperatura superficial del suelo está cerca de su media diaria a menudo la emisión de N_2O es la

media diaria. Sin embargo, el uso de la temperatura del suelo, como estimador del momento del día más representativo de la emisión de N_2O media diaria, no siempre es correcto.

Debido al transporte vertical, la emisión superficial de N_2O suele encontrarse retrasada de su producción a medida que aumenta la profundidad a la cual se genera (Clough et al., 1999). Por esto, la hora del día a la cual la emisión de N_2O en superficie iguala a la emisión media diaria, varía de acuerdo a la profundidad de la producción y la capacidad de difusión del gas dentro del suelo (Clough et al., 2005). Sumado a esto, la temperatura del suelo más representativa es aquella que es medida a la profundidad de máxima producción de N_2O , lo cual es variable y generalmente desconocida. Por ello, estimar la emisión de N_2O a partir de la temperatura del suelo puede llevar a errores metodológicos. Por lo tanto, determinar el momento del día más representativo de la emisión de N_2O media diaria sería necesario para asegurar que las futuras determinaciones realizadas en un único momento de muestreo diario, sean representativas.

La emisión de N_2O , desde los suelos agrícolas es, en general, tomada utilizando cámaras de almacenamiento de gas instaladas a campo, las cuales permiten analizar comparativamente diferentes situaciones y sistemas de manejo (Mosier et al., 2006; Jantalia et al., 2008; Almaraz et al., 2009). Las cámaras estáticas de almacenamiento de gas pueden ser de dos tipos: ventiladas o no ventiladas. Las cámaras ventiladas poseen la ventaja de minimizar los disturbios generados por los cambios de presión ejercida por el gas proveniente del suelo, dado que poseen una pequeña abertura en una de sus paredes. Sin embargo, este tipo de cámaras son más complejas, tanto de realizar como de utilizar y presentan mayor pérdida de gases por difusión que las cámaras no ventiladas (Hutchinson y Livingston, 2001). La metodología utilizada para medir la emisión de N_2O es relativamente reciente, por lo que se carece de estándares y lineamientos claros aceptados internacionalmente (Hutchinson y Livingston, 2002). En relación con esto, Rochette y Eriksen-Hamel (2008) concluyen que entre un 50 y un 60 % de los datos medidos con cámaras de almacenamiento de N_2O presenta un nivel de confianza bajo, causado por el uso de métodos inadecuados.

El N_2O es un gas traza cuya concentración en la atmósfera fue sólo 319 ppb en 2005 (Snyder et al., 2009) y está aumentando a una tasa del 0,25% por año (Bateman y Baggs, 2005). Sumado a ello, el N_2O es un GEI con alto poder de calentamiento, que se encuentra involucrado en la destrucción de la capa de ozono estratosférica (Pérez-Ramírez, 2007; Six et al., 2004). Su baja tasa de difusión desde el suelo hacia la atmósfera, causa que mínimas variaciones al momento de la toma de las muestras de N_2O generen errores considerables. Por todo esto y debido a que el proceso de medición del N_2O directo desde el suelo aún se encuentra en una etapa inicial, en la cual se debe analizar la forma de minimizar los errores experimentales y de muestreo (Venterea et al., 2009), cualquier aporte a la calidad de la toma de muestras es fundamental ya que ayudaría a generar datos más confiables de la emisión de N_2O . Por todo lo mencionado, si se desea medir la emisión de N_2O para comparar situaciones o momentos, es

importante determinar el momento del día en el cual la emisión de N_2O es la más representativa del valor medio diario.

2.2 Hipótesis

En el suelo de estudio, un suelo de la PO manejado con SD, la marcha de la emisión de N_2O se encuentra desfasada de la marcha de la temperatura del suelo.

2.3 Objetivos

A) Determinar la variación diaria de la temperatura del suelo y ver su relación con la emisión de N_2O en un suelo de la PO manejado con SD;

B) Estimar el momento del día que mejor refleja la emisión media diaria de N_2O desde un suelo de la PO manejado con SD.

2.4 Materiales y Métodos

2.4.1 Área de estudio

Se trabajó en un campo en producción (Ea. La Solita) del partido de Chivilcoy, provincia de Buenos Aires ($34^{\circ} 57' 29''$ S, $60^{\circ} 13' 11''$ O). El suelo dominante en el área es un Argiudol Típico, Familia Franco Fina de la Serie O'Higgins (INTA, 2014). La textura superficial del suelo es franca, mientras que la sub-superficial es franco arcillo limosa. Su principal limitante es el drenaje deficiente (INTA, 2014). El lote en el cual se realizó el muestreo viene siendo manejado bajo SD desde hace al menos cinco años. En él se realizan rotaciones continuas de tres años cuya secuencia de cultivos es trigo (*Triticumaestivum* L.) / soja – maíz (*Zea mays* L) – soja y se realiza una aplicación de 85 a 95 kg N ha⁻¹ como urea al momento de la siembra del trigo y una al maíz entre los estadios fenológicos V₃ y V₅ según la escala de Ritchie y Hanway (1982). Al momento del muestreo el lote se encontraba con soja de segunda. En el sitio de estudio, se observó la presencia de estructura laminar en la superficie del suelo, la cual ya había sido previamente descripta por Alvarez et al. (2014).

2.4.2 Evolución de la emisión de N_2O a lo largo del día

Durante el otoño, del 16 al 18 de abril de 2010, luego de un evento de lluvia de 25 mm, se procedió a medir la emisión de N_2O . La medición se realizó mediante la utilización de cinco cámaras estáticas no ventiladas a intervalos de 3h y durante 72h. Esto se realizó con el fin de captar la variación de la emisión de N_2O a lo largo del día. Durante los tres días de muestreo el EPSA superó el 80% y la concentración de N-NO₃⁻ superó las 50mg kg⁻¹. Durante el muestreo, la temperatura media del aire fue 14,5°C, fue algo superior a la media para esta época de año (11,16°C) (Sistema de Información y Gestión Agrometeorológico INTA, 2014).

2.4.3 Determinación de la emisión de N₂O

Se trabajó con cámaras rectangulares de 0,13m² de área y 0,13 m de altura. De acuerdo con los criterios de Rochette y Eriksen-Hamel (2008), las cámaras están formadas por dos partes: A) una base de hierro, la cual fue anclada al suelo 24 h antes de realizar la colecta del N₂O y con una inserción en el suelo mayor a 5 cm; y B) una parte plástica (la cámara propiamente dicha) que se coloca al momento de la toma de las muestras y es removida una vez terminada la colecta del N₂O (**Figura 2.1**).

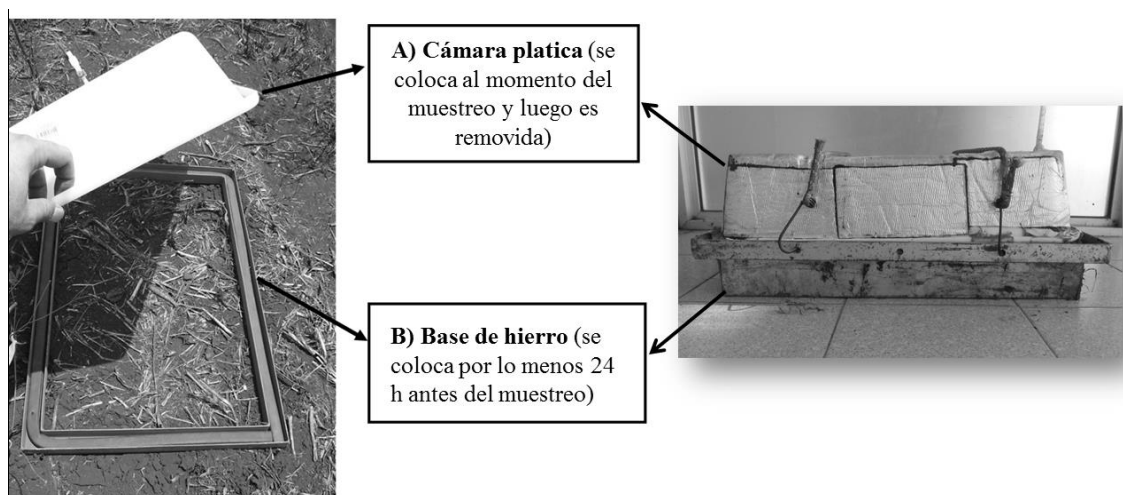


Figura 2.1. Fotografías de la cámara utilizada para el muestreo del N₂O. La cámara está formada por dos partes: A) Cámara plástica, que es colocada al momento de la toma de las muestras y luego es removida y B) Base de hierro, la cual es clavada en el suelo al menos 24h antes de muestreo del N₂O.

Las cámaras fueron ubicadas fuera de la zona de la cabecera del lote y separadas entre sí por una distancia aproximada de cinco metros de manera tal de tomar las muestras del gas procedentes tanto del surco como del entresurco del cultivo. Los restos vegetales que por azar quedaron adentro de la cámara, no fueron removidos. Del interior de cada una de las cámaras se tomaron tres muestras de gas para calcular la emisión del N₂O y verificar la linealidad en la misma. Las muestras de gas fueron extraídas utilizando una bomba de vacío a los 0, 20 y 40 minutos luego de la colocación de la parte superior de la cámara (cámara plástica). Las muestras de N₂O fueron luego inyectadas en viales (frascos sellados) de 25 mL (**Figura 2.2**).

La bomba de vacío utilizada para la extracción del gas es de accionamiento manual y el procedimiento completo para el intercambio del gas dentro del vial consiste en tres pasos. Primero se hace vacío dentro del vial, llevando la aguja del manómetro de la bomba hasta un valor fijo. Luego, mediante la apertura y cierre de diferentes válvulas, se procede a hacer pasar el aire desde el interior de la cámara hacia el interior del vial.

Finalmente, se vuelven a colocar las válvulas en la posición inicial, dejándolas preparadas para repetir los tres pasos. En cada conjunto de tres pasos aproximadamente el 90% del volumen del aire del vial es reemplazado por el mismo volumen de aire del interior de la cámara. Para asegurar el reemplazo del 100% del aire original por el aire del interior de la cámara este procedimiento es repetido tres veces. Este procedimiento completo de tres pasos es repetido tres veces a los 0, 20 y 40 minutos posteriores a la colocación de la parte superior de la cámara (cámara plástica) (**Parte A, Figura 2.1**).

Los tres tiempos de muestreo (0, 20 y 40 minutos) son necesarios para verificar la linealidad en la emisión del N_2O durante el tiempo que dura cada toma completa del gas. La corroboración de la linealidad en la emisión de N_2O desde el suelo es un medio para asegurar que la tasa de emisión de N_2O se mantiene constante durante el tiempo que dura el muestreo. Esto asegura que no hay saturación del gas en el interior de la cámara. El cálculo de la emisión de N_2O , el cual es explicado más abajo, se realiza utilizando los tres puntos (0, 20 y 40 minutos).

La concentración de N_2O dentro de cada vial fue determinada mediante el uso de un cromatógrafo de gases GC 6890 Agilent Technologies Network, equipado con un detector de captura de electrones de Ni 63 (Agilent Network GC System, ÁECD) y una columna HP- Plot Molesieve 30m x 530 μ m x 25 μ m. Las temperaturas del horno, del inyector y del detector fueron 150 °C, 100 °C y 300 °C, respectivamente. El gas *carrier* utilizado fue N_2 y el volumen de inyección de 0,5 cm³.

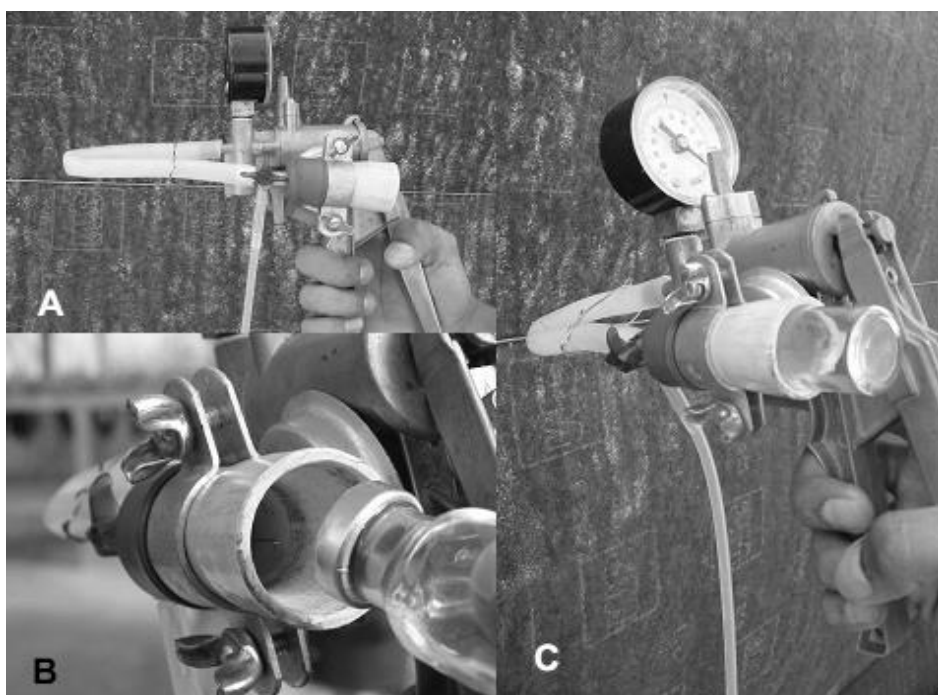


Figura 2.2. Bomba de vacío desde diferentes ángulos. A) vista lateral. B) Vista posterior, se observa cómo es colocado el vial. C) Vista posterior, muestra el manómetro utilizado para generar siempre la misma presión de vacío dentro del vial.

2.4.3.1 Cálculo de la emisión de N₂O (f)

La tasa de emisión de N₂O, medida como µg N-N₂O m⁻² h⁻¹, desde el suelo hacia la atmosfera se calculó mediante la ecuación [1].

$$f = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{m}{V_m} \quad [1]$$

donde $\Delta C/\Delta t$ es el cambio en la concentración de N₂O (ΔC) medido en partes por millón (ppm) dentro la cámara durante el tiempo de incubación medido en minutos (Δt), V es el volumen de la cámara (16,7 dm³), A es el área de suelo cubierta por la cámara (0,13 m²), m es el peso molecular de N₂O y V_m es el volumen molar N₂O (dm³ mol⁻¹). El flujo de gas se calculó como el incremento en la concentración durante el periodo de incubación.

2.4.4 Temperatura del suelo y del aire, y propiedades edáficas

Durante los tres días consecutivos que duró el ensayo, se tomaron una vez al día muestras de los primeros 20 cm de suelo cercano a las cámaras y se analizaron en el laboratorio. Allí, se determinó la concentración de N-NO₃⁻ por colorimetría (Keeney y Nelson, 1982) luego de la reducción de los NO₃⁻ a NO₂⁻ (Markus et al., 1985) a partir de la extracción con una solución de sulfato de cobre (CuSO₄) (Jackson, 1958) sobre las muestras de suelo húmedo; y el contenido hídrico gravimétrico (CHg) por secado en estufa a 105 °C hasta peso constante. La densidad aparente (Dap) cercana a cada cámara fue tomada al inicio del ensayo y determinada por el método del cilindro (100 cm³; 0,05 m de diámetro) (Blake, 1965). A partir de los valores de Dap y de la densidad de partícula (Dp) se calculó la porosidad total (PT), asumiendo una Dp de 2,65 Mg m⁻³ y utilizando la ecuación [2]. También se calculó el contenido de hídrico volumétrico (CHv) a partir de CHg y Dap usando la ecuación [3].

$$PT (\%) = 1 - (Dap / Dp) * 100 \quad [2]$$

$$CHv (\%) = CHg * Dap * 100 \quad [3]$$

donde PT (%) es el volumen de poros en una muestra de suelo (volumen no sólido) dividido por el volumen de la masa de la muestra; Dap es la masa de suelo seco por unidad de volumen (g cm⁻³); Dp es la densidad de las partículas del suelo, es decir, la masa seca de las partículas dividido por el volumen de las partículas (g cm⁻³); CHv(% v/v) es el contenido de agua del suelo expresado como el volumen de agua por unidad de volumen de la masa de suelo; CHg(% p/p) es la relación entre la masa de agua en un suelo y la masa de ese suelo secado a estufa (Glossary of Soil Science Terms, 2012).

El porcentaje del EPSA (%) se calculó a partir de los valores de PT y CHv, utilizando la ecuación [4].

$$\text{EPSA (\%)} = \text{CHv (\%)} / \text{PT (\%)} * 100[4]$$

Cada tres horas, conjuntamente con la toma de muestras de aire del interior de las cámaras, se tomó la temperatura del suelo con un termómetro digital a 0,10 m de profundidad y la temperatura del aire a la sombra con un termómetro de mercurio sobre el suelo al costado de las cámaras.

2.5 Análisis estadístico

Se realizaron análisis de regresión lineal utilizando los tres puntos de cada muestreo, tomando como variable independiente el tiempo de emisión del N₂O desde el suelo hacia la atmósfera (0, 20 y 40 minutos) y como variable dependiente la concentración de N₂O dentro del vial (el cual representa el N₂O acumulado dentro de la cámara). Cuando el coeficiente de determinación (R²) de la regresión lineal fue mayor que 0,7, se consideró que la pendiente de la función representó la tasa de emisión de N₂O. Cuando el R² fue menor que 0,7 y/o la función lineal no pudo ser ajustada (regresión no significativa), el flujo de N₂O en el intervalo fue considerado cero. Todos los valores de emisión de N₂O fueron incluidos en el análisis. Los valores mínimos detectables (distinguidos de cero) de emisión se encontraron por encima de 0,3 µg de N-N₂O m⁻² h⁻¹.

Se realizaron regresiones lineales entre la emisión de N₂O y las variables contenido de N-NO₃⁻ y EPSA, y análisis de la varianza (ANOVA) entre rectas. Todos los análisis de regresión y ANOVA se realizaron mediante la utilización del programa estadístico Infostat (Infostat, 2010).

2.6 Resultados

Si bien la distancia entre cámaras nunca superó los 5 m, se observó considerable variabilidad entre ellas. El EPSA presentó un rango de valores entre 84-95% con un valor promedio de 89% y la concentración de N-NO₃⁻ del suelo varió entre 50 y 100 mg N-NO₃⁻ kg⁻¹ con un valor promedio de 73,4 mg kg⁻¹. El contenido de N-NO₃⁻ y el EPSA variaron entre cámaras, pero ninguna de estas dos variables presentó diferencias significativas entre días durante los tres días de medición. Se observó una relación positiva de la tasa de emisión de N₂O tanto con el EPSA como con el contenido de N-NO₃⁻ (**Figura 2.3**).

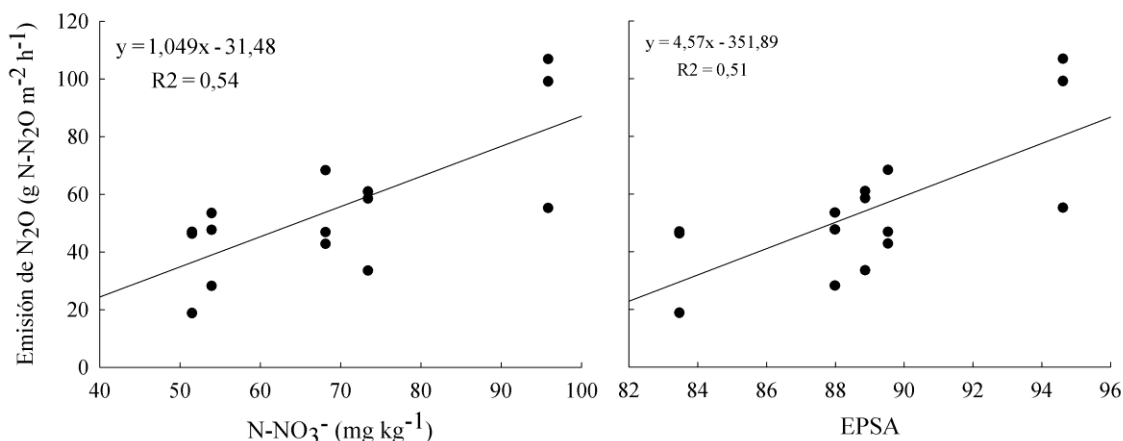


Figura 2.3. Relación entre la tasa de emisión de óxido nitroso (N_2O) y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO_3^-) del suelo (A); y el espacio poroso saturado de agua (EPSA) (B) para las cinco cámaras de estudio. Los puntos (15) representan el valor de cada día (3) y cada cámara (5).

La temperatura media del aire fue $14,5^\circ\text{C}$, con un mínimo de $4,0^\circ\text{C}$ y un máximo de $31,3^\circ\text{C}$, mientras que la temperatura media del suelo fue de $16,8^\circ\text{C}$ con un mínimo de $14,4^\circ\text{C}$ y un máximo de $19,2^\circ\text{C}$. Las temperaturas del aire y del suelo mostraron variaciones durante los tres días de muestreo. Estas variaciones fueron mucho más acentuadas en el aire que en el suelo (**Figura 2.4**).

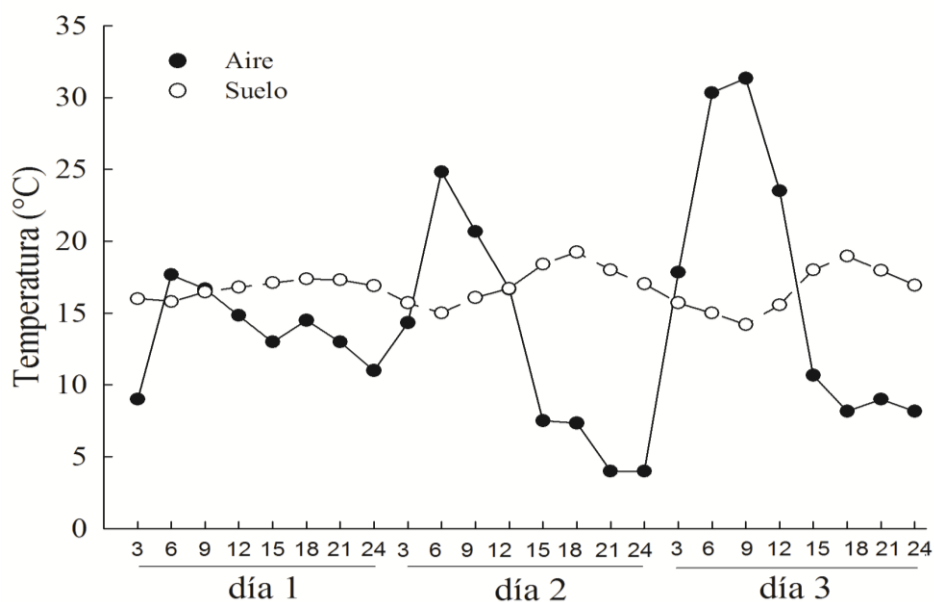


Figura 2.4. Temperatura del suelo y del aire para las diferentes horas del día a los largo de los tres días de estudio.

La emisión de N_2O presentó un patrón cíclico a lo largo del día, con máximos en el horario de la madrugada (3:00) y mínimos para la tarde noche (15:00 a 18:00), se observó un desfase de nueve horas aproximadamente (tres horarios de muestreo; **Figura 2.5**) entre la temperatura máxima del suelo y la emisión de N_2O máxima. Los valores de emisión de N_2O medidos que más se acercaron al valor de emisión de N_2O medio diario fueron los correspondientes a las 6:00, a las 9:00, a las 12:00 y a las 21:00 h (**Figura 2.6**). Sólo las mediciones correspondientes a las 9:00 y a las 12:00h ajustaron una regresión lineal entre la emisión de N_2O media diaria y la emisión media horaria fue significativa y con R^2 elevado (**Figura 2.7**).

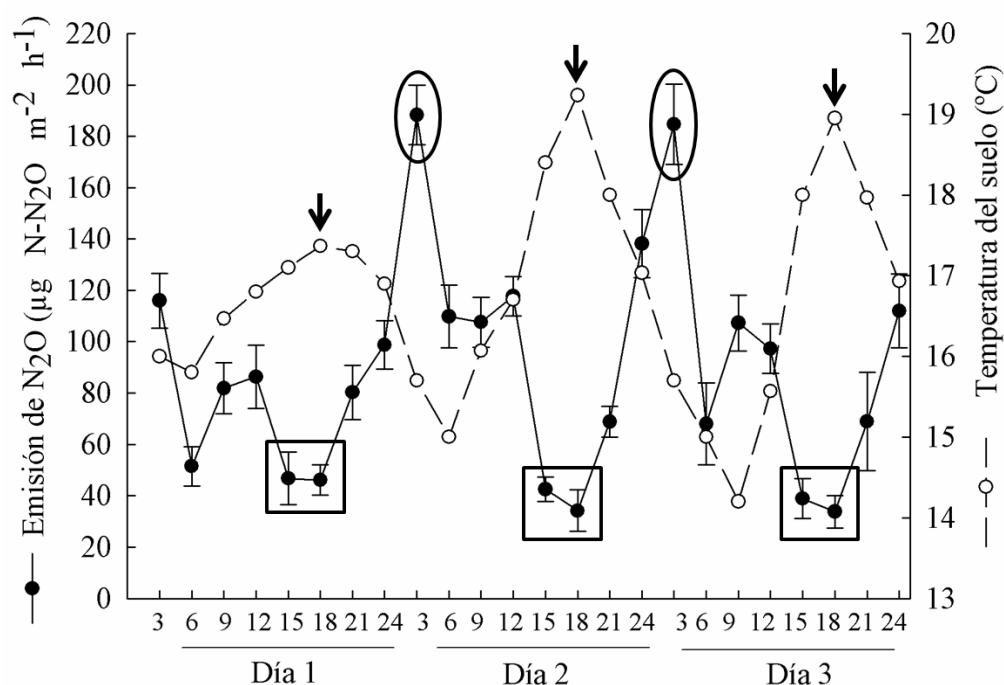


Figura 2.5. Emisión de óxido nitroso (N_2O ; círculo lleno) y temperatura del suelo (círculo vacío) para las diferentes horas del día a lo largo de los tres días de muestreo. Los círculos llenos indican el promedio de emisión de N_2O de las cinco cámaras y las barras verticales representan el error estándar. La figura muestra el ciclo de emisión de N_2O con máximos a la hora 3:00 (óvalos) y mínimos a las 15:00 y a las 18:00 h (cuadrados) y el ciclo de la temperatura del suelo. Las flechas muestran el pico diario de temperatura.

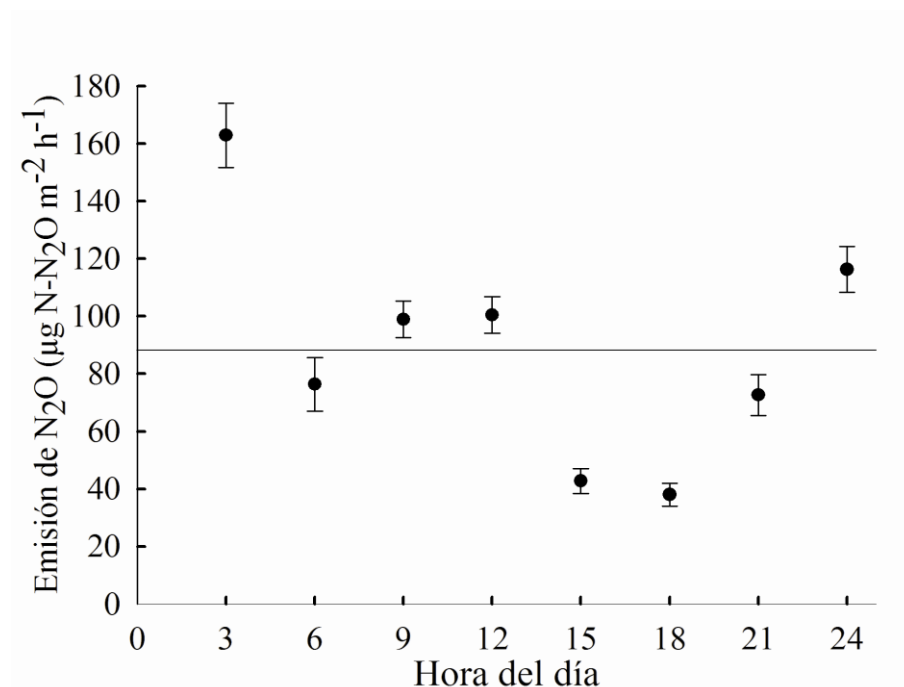


Figura 2.6. Dinámica de la emisión de óxido nitroso (N₂O) a lo largo del día. Los círculos representan la media horaria de las cinco cámaras y los tres días de medición y las barras verticales indican el error estándar. La línea horizontal corresponde a la media diaria (88,6 µg N-N₂O m⁻² h⁻¹).

Sobre aquellas tasas de emisión de N₂O horaria cuyos valores ajustaron significativamente a una recta ($p < 0,01$) y presentaron un coeficiente de determinación elevado ($R^2 > 0,75$), se evaluó estadísticamente su similitud con la recta 1:1 (**Cuadro 2.1**). A partir de los resultados mostrados en la **Figura 2.7** se puede inferir que los horarios del día que mejor representan la emisión de N₂O media diaria son el de las 9:00; las 12:00 y las 24:00 h. Sin embargo, el horario de las 24:00 h presentó menor R^2 y mayor disimilitud con la recta 1:1 (**Cuadro 2.1**). Cuando relacionamos la emisión de N₂O con la temperatura del aire y del suelo, vemos que la emisión de N₂O estuvo pobremente relacionada con la temperatura del aire y se relacionó negativamente con la temperatura del suelo ($R^2 = 0,34$; **Figura 2.8**).

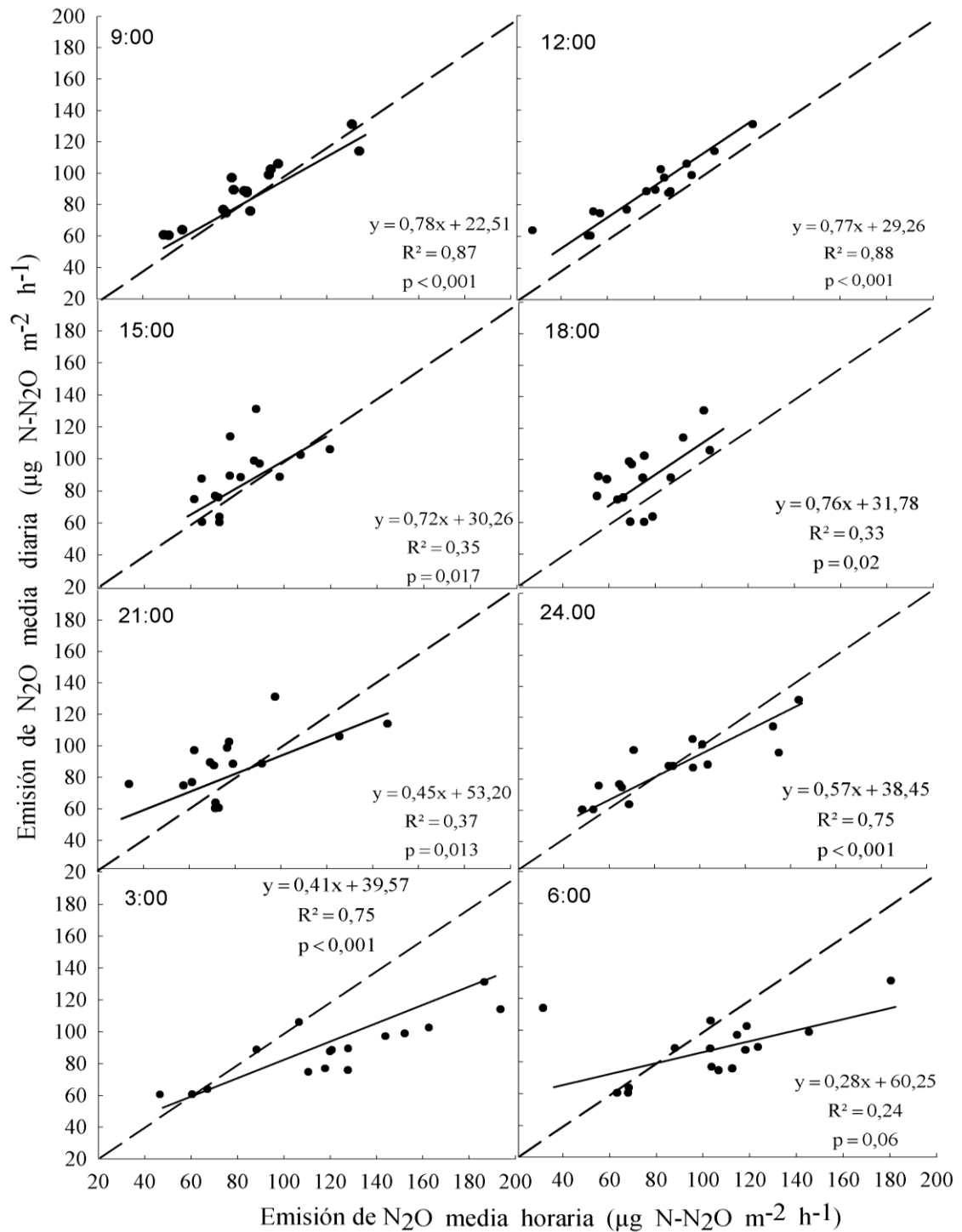


Figura 2.7. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N_2O) media diaria y la emisión de N_2O media horaria para cada hora de muestreo. Cada punto sobre el eje y representa el valor promedio diario de emisión de N_2O de una cámara (5), de un día (3) y de los ocho momentos de muestreo diario, mientras que cada punto sobre el eje x representa el valor de emisión de N_2O de una cámara (5) y de un día (3). La línea punteada representa la relación 1:1 entre la media diaria y la media horaria, mientras que la línea continua representa el mejor ajuste de los valores observados entre la media diaria y la media horaria. El valor del R^2 indica el coeficiente de determinación de la recta y el valor de p indica el nivel de significancia con el cual los puntos se ajustan a la recta para cada horario de medición.

Cuadro 2.1. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N₂O) media diaria y la emisión de N₂O media horaria, para las horas del día cuyos valores ajustaron a una recta ($p < 0,001$). $y = ax + b$, donde a es la pendiente de la regresión; b es la ordenada al origen (b); R^2 es el coeficiente de determinación de la recta horaria y p indica el nivel de significancia con el cual la recta horaria difiere de la recta 1:1.

Horario de muestreo (hora del día)	a	b	R ²	p
09:00	1,12***	-13,78	0,87***	0,21
12:00	1,13***	-23,73	0,88***	0,1
24:00	1,31***	-28,24	0,75***	0,87
03:00	1,84***	-42,22	0,75***	< 0,001

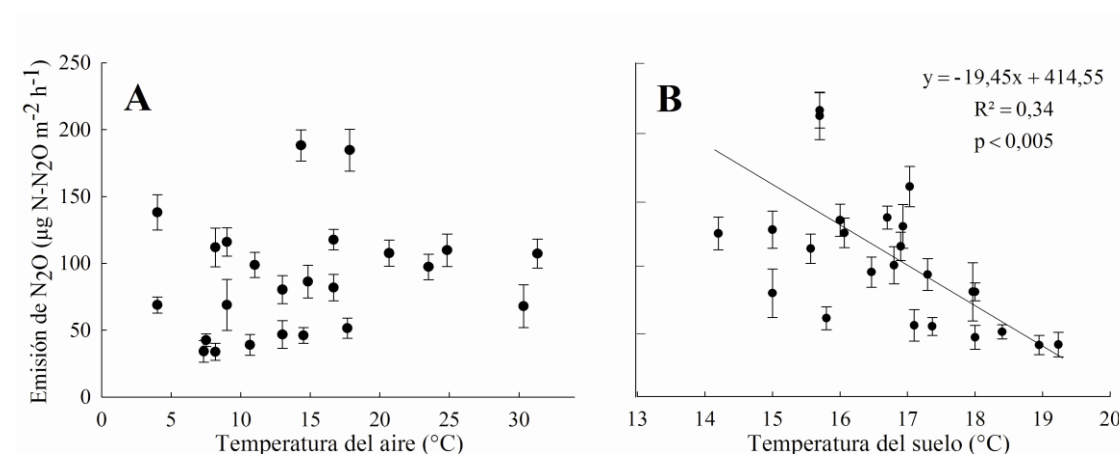


Figura 2.8. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N₂O) y la temperatura del aire (A) y del suelo (B), las barras representan el error estándar.

2.7 Discusión

Los resultados aquí observados muestran una relación positiva entre el EPSA y la emisión de N₂O, lo cual acuerda con los resultados obtenidos por Shelton et al. (2000). También se encontró relación positiva entre la concentración de N-NO₃⁻ y la emisión de N₂O, en este caso coincidiendo con lo observado por Bateman y Baggs (2005).

Existe diferente dinámica en la emisión desde el suelo para los diferentes gases, suelos y épocas del año (Denmead et al., 1979; Blackmer et al., 1982; Akiyama et al., 2000; Xunhua et al., 2003; Di Marco et al., 2004). Para las condiciones del suelo bajo estudio, las horas del día que mejor representaron la emisión de N₂O media diaria fueron las 9:00, las 12:00 y las 24:00 h ($R^2 = 0,87$, $R^2 = 0,88$ y $R^2 = 0,75$ respectivamente). Este resultado fue similar a otros observados en suelos bajo climas muy diferentes al de la zona de estudio. Por ejemplo, en Oxisoles de Brasil (Jantalia et

al., 2008; Alves et al., 2012) y en suelos limo arenosos de Escocia (Alves et al., 2012). Para ambos suelos los autores mencionan el horario del mediodía como el más representativo de la emisión de N_2O media diaria.

Los suelos manejados con el sistema de SD presentan a menudo bajo volumen de poros estructurales (Taboada et al., 1998; Micucci y Taboada, 2006; Taboada et al., 2008). El bajo volumen de estos poros es atribuido a la falta de perturbación mecánica, así como al tráfico de maquinaria agrícola pesada utilizada en este sistema de labranza. Todo esto, se traduce en la compactación superficial y la formación de estructura poco favorable, como la de tipo laminar y/o masivo (Bonel et al., 2005; Sasal et al., 2006; Alvarez et al., 2009). Estos tipos de estructura fueron también identificados *in situ* en esta tesis, y previamente en este lugar por Álvarez et al. (2014). En particular las estructuras de tipo laminar se encuentran asociadas a la presencia de poros horizontales, que también tienden a ser más tortuosos y menos conectados (Bonel et al., 2005). Por esto, resulta lógico pensar que los poros horizontales dificultan el flujo de N_2O hacia la atmósfera.

La hora del día en la cual la emisión de N_2O en superficie iguala a la emisión de N_2O media diaria, varía de acuerdo a la capacidad de difusión del gas dentro del suelo (Clough et al., 2005). El flujo de gases entre el suelo y la atmósfera es el resultado de tres procesos básicos: la producción, el consumo y el transporte (Conrad, 1996). En nuestro suelo de estudio es posible que la presencia de estructura laminar lleve al desfase entre la producción y la emisión del N_2O , haciendo que no se observe una correlación positiva entre la emisión de N_2O y la temperatura del suelo. Estos resultados se oponen a los hallados por Denmead et al. (1979) y Alves et al. (2012), quienes encontraron una correlación positiva entre ambas variables.

Teniendo en cuenta que la capacidad de difusión de un gas está relacionada con un factor de impedancia, el cual depende de la forma y la orientación de los poros del suelo (Fen et al., 2009), se puede también sugerir que la disposición horizontal de los poros, sumado al elevado EPSA (cercano al 90%), pudo reducir la velocidad a la que el N_2O se movió desde el suelo hacia la atmósfera (Glinski y Stepniewski, 1985). Esto es consistente con los resultados obtenidos por Bartelt-Hunt y Smith (2002), quienes encontraron que con una disminución en el contenido de humedad del suelo y, por lo tanto, un aumento en el porcentaje de los poros llenos de aire (30% a 39%), el coeficiente de difusión de un gas aumentó de $0,0133$ a $0,0609 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Blagodatsky y Smith (2012) realizaron una revisión bibliografía enfocada principalmente en los procesos que controlan la emisión de N_2O desde el suelo. Esta revisión se realizó considerando tanto los procesos bioquímicos que conducen a la producción y el consumo del gas en el suelo, como al proceso físico-químico de transporte e intercambio entre el gas y la fase líquida. A partir de sus resultados, los autores ponen de manifiesto la importancia de considerar el acoplamiento entre ambos procesos (producción y transporte) al momento de evaluar un eventual flujo de gas

hacia la atmósfera. El acoplamiento depende de la ubicación de los sitios de reacción (producción y consumo) y de las vías de escape del gas hacia la superficie del suelo. Ellos mencionan que a menudo, un error en los modelos de simulación es dado por asumir la transferencia inmediata de los gases producidos en la matriz del suelo hacia la atmósfera, sin considerar reacciones adicionales dentro el perfil del suelo. En relación a esto, Shcherbak y Robertson (2014) sugieren que la solubilidad de N_2O en agua juega un papel significativo en el retraso del movimiento de este gas dentro del suelo.

El N_2O puede quedar atrapado en el agua del suelo. El grado de entrapamiento puede aumentar a medida que lo hace el EPSA (Aulakh et al., 1992). El entrapamiento es relativo ya que, en última instancia, el N_2O difundirá a través del agua y será liberado hacia la atmósfera. El potencial de entrapamiento de N_2O es bien conocido en suelos inundados y fue observado en suelos drenados (Lindau y DeLaune, 1991; Clough et al., 1999). Clough et al. (1999) realizaron un ensayo en invernáculo con muestras de suelo intacto y bien drenado, en las cuales inyectaron N marcado ($^{15}N-NO_3^-$) a 1 metro de profundidad y monitorearon el N_2O dentro del perfil y el emitido desde la superficie del suelo. Sus resultados mostraron que cerca del 6% del ^{15}N aplicado fue transformado a N_2O y liberado a la atmósfera 38 días después de la inyección en profundidad, lo que demuestra que el N_2O fue entrapado por el agua del suelo. Dado que el entrapamiento retrasa la difusión durante un periodo de tiempo, se genera un desfase entre el proceso de producción y la difusión del N_2O hacia la atmósfera.

Además del entrapamiento por la película de agua, otro factor que pudo incidir en el desfase observado entre la marcha de la temperatura del suelo y la emisión de N_2O (**Figura 2.5**), fue la presencia de estructura laminar asociada al manejo con SD detectada en el suelo de estudio (Alvarez et al., 2014). Como es sabido, este tipo de estructura posee poros tortuosos con orientación horizontal (Bonel et al., 2005; Sasal et al., 2006; Alvarez et al., 2009; 2014). Es posible que la presencia de este tipo de poros pudiera causar un aumento en el grado de entrapamiento del N_2O dentro del perfil del suelo, llevando a un desfase entre la producción y la emisión del N_2O hacia la atmósfera.

2.8 Conclusiones

Como se hipotetizó, la marcha de la emisión de N_2O presentó un desfase con respecto a la marcha de la temperatura del suelo. A partir de este resultado no se encontró evidencia suficiente para rechazar la hipótesis propuesta.

El momento del día más representativo para la medición de la emisión de N_2O desde el suelo de estudio (un Molisol manejado bajo SD), se encuentra entre las 9:00 y las 12:00, y a las 24:00 h. Para las condiciones en que se llevó a cabo el ensayo, las mediciones tomadas en esos horarios parecen ser las más indicadas si se busca minimizar los errores de muestreo al estimar la tasa media diaria de emisión de N_2O .

Capítulo 3. Jerarquización de las variables reguladoras de la emisión de N₂O: Influencia de la ubicación en el lote

Publicación derivada de este capítulo: Cosentino, V.R.N., Figueiro Aureggi, S.A. y Taboada, M.A. 2013. Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. European Journal of Soil Science 64(5): 550-557.

3.1 Introducción

El laboreo excesivo con arados y rastras, conocido como labranza convencional (LC) conduce a la formación de estructuras desfavorables típicas como sellos, costras superficiales y pisos de arado, y favorece la pérdida de suelo por erosión (Taboada et al., 1998; VandenBygaart et al., 1999; Hamza y Anderson, 2005; Alvarez et al., 2006; Micucci y Taboada, 2006; Sasal et al., 2006). Como respuesta a este escenario de preocupante deterioro, se han adoptado prácticas de agricultura conservacionista, cuya máxima expresión por el grado de cobertura del suelo que ofrece, es la SD.

En la Argentina, el área bajo SD pasó de 9 millones de hectáreas en 1999 a 25 millones de hectáreas en 2009 (AAPRESID, 2014). Actualmente, con más de 25 millones de hectáreas (el 79% de la superficie agrícola total), la Argentina es el segundo país en el mundo en cuanto a la superficie bajo este sistema de labranza (Derpsch y Friedrich, 2010), con una participación a nivel mundial del 22% (Hang et al., 2011). La SD es el sistema de siembra que predomina en gran parte de la Región Pampeana (AAPRESID, 2014) y su éxito se basa en varios factores, entre los que se cuentan los de tipo económico (ej. ahorro de combustible, aumento de la escala de trabajo), los de conservación de suelos (ej. control de la erosión por mejor cobertura superficial), y la simplificación de las tareas (Satorre, 2005). Sumado a esto, la introducción de la soja genéticamente modificada -resistente al glifosato- ha permitido el aumento sostenido del área sembrada con esecultivo, el cual se produjo en gran medida bajo SD (Hang et al., 2011).

La SD es considerada efectiva para prevenir pérdidas de suelo por erosión y para secuestrar C en los suelos (Díaz-Zorita y Grove, 2002; Bolliger et al., 2006; Steinbach y Alvarez, 2006; Lal et al., 2007). Sin embargo, los suelos con alto contenido de limo (ej. los de la PO) bajo SD continua pueden presentar formas estructurales poco favorables en superficie causadas por el tránsito de maquinarias, como son las estructuras masivas y/o laminares (Bonel et al., 2005; Sasal et al., 2006, Alvarez et al., 2009, 2014). Bajo este sistema de labranza, las estructuras desfavorables no son borradas por las labranzas como ocurre en LC cuando se prepara la cama de siembra.

Las estructuras llamadas poco favorables son las de tipo masivo y las de tipo laminar. Ambas estructuras están frecuentemente asociadas entre sí y son más notorias en la ubicación de cabecera de lote, dado que en ésta existe mayor frecuencia de tránsito de maquinarias durante las operaciones de siembra y cosecha (Bonel et al., 2005; De Battista et al., 2005; Alvarez et al., 2014). Las estructuras desfavorables pueden producir efectos negativos sobre la tasa de infiltración, causando encharcamiento superficial (Bonel et al., 2005; Sasal et al., 2006; Alvarez et al., 2009). Como resultado, durante episodios de lluvias intensas se favorece la aparición de condiciones anaeróbicas transitorias, asociadas también con altos porcentajes de agua en los poros. Por este motivo, la presencia de estructura desfavorable puede promover el proceso de desnitrificación y la emisión de N_2O desde el suelo.

El N_2O es el principal GEI generado por la agricultura y es, por ello, el foco principal de los esfuerzos destinados a mitigar su emisión desde los suelos agrícolas (Snyder et al., 2009). La emisión de N_2O depende de la suma de variables requeridas por las poblaciones microbianas del suelo para llevar a cabo la nitrificación y la desnitrificación, que son los procesos responsables de la emisión de N_2O . La teoría de la estequiometría ecológica en el nivel micro plantea la existencia de variables (subdivididas en elementos y factores) que regulan el crecimiento de los microorganismos. Si la estequiometría de estas variables se encuentra desbalanceada el crecimiento de los microorganismos probablemente se vea afectado negativamente. Si aplicamos esta teoría a los microorganismos generadores de N_2O podríamos pensar que existen variables reguladoras de la emisión de N_2O , las cuales se pueden dividir en elementos como la disponibilidad de sustrato (NO_3^- , NH_4^+ y C lábil, entre otros) y factores (temperatura, EPSA, pH y disponibilidad O_2 , entre otros). Si una o más de estas variables se ven negativamente afectadas, es probable que la emisión de N_2O disminuya.

Por este motivo, la emisión de N_2O desde el suelo es muy variable en el espacio y en el tiempo. Esta variabilidad se debe a la compleja serie de variables ambientales y a la heterogeneidad del suelo y de las comunidades microbianas que controlan los procesos de nitrificación y desnitrificación (Firestone y Davidson, 1989). La heterogeneidad en las variables que regulan la emisión de N_2O da lugar a "*hot-spots*" y "*hot-moments*" que son difíciles de predecir (McClain et al., 2003). Tanto los "*hot-spots*" como los "*hot-moments*" son a menudo causados por el cambio de una sola variable reguladora.

Existe controversia acerca de cuál es la principal variable reguladora de la emisión de N_2O , y sobre la forma en que una determinada variable puede promover o limitar la emisión de N_2O en diferentes situaciones. Por ejemplo, Shelton et al. (2000) encontraron una relación lineal positiva entre la emisión de N_2O y el contenido de agua del suelo entre capacidad de campo (60% del EPSA) y saturación (100% del EPSA). Por otro lado, Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern (2004) observaron emisiones máximas entre el 80 y el 95% de EPSA, con disminución de la emisión de N_2O cuando este valor fue superior al 95%. Por otra parte, la variable temperatura presentó una relación positiva con la emisión de N_2O para los autores Dobbie y Smith (2001) y Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern (2004), mientras que negativa para Almaraz et al. (2009). Estos trabajos muestran que no existe una única respuesta sobre la emisión de N_2O a las variables reguladoras, y que además estas variables a veces actúan en forma contrapuesta.

Parecería adecuado utilizar un modelo conceptual alternativo para comprender los mecanismos de limitación fisiológica en los microorganismos formadores de N_2O desde el suelo (Hessen et al., 2004; Moe et al., 2005). Este modelo conceptual alternativo podría proveer la teoría de la estequiometría ecológica. Esta teoría se basa en que los procesos de emisión de N_2O no están regulados por la totalidad de las variables reguladoras (NO_3^- , EPSA, temperatura, entre otros) sino por aquella variable que se encuentra limitando la reacción.

3.2 Hipótesis

La ubicación en el lote afecta la magnitud de la emisión de N_2O : existe mayor emisión de N_2O en la ubicación de cabecera de lote (mayor frecuencia de tránsito) que en ubicaciones de centro de lote (menor frecuencia de tránsito).

3.3 Objetivos

- A) Evaluar el efecto de la ubicación en el lote sobre la tasa de emisión de N_2O ;
- B) Identificar y clasificar a las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O durante las diferentes estaciones en un suelo manejado con SD.

3.4 Materiales y Métodos

3.4.1 Área de estudio

Se trabajó en el mismo campo en producción (Ea. La Solita) del partido de Chivilcoy, provincia de Buenos Aires en el cual fue llevado a cabo el ensayo correspondiente al Capítulo 2 de esta tesis. Se diferenciaron dos ubicaciones en lotes en producción, afectados por diferente intensidad de tránsito agrícola: cabecera y centro de lote. De esta forma se intentó lograr una diferente proporción de estructuras superficiales favorables (e.g. granular, bloques subangulares muy finos y finos) y no favorables (e.g. bloques grandes y muy grandes, estructuras masivos y laminares) en un mismo lote y suelo bajo estudio. Previamente, en este sitio de estudio Alvarez et al. (2014) observaron que el pasaje reiterado de maquinarias agrícolas en la cabecera del lote favorece la formación de estructuras no favorables.

3.4.2 Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con un arreglo factorial de dos factores: secuencia de cultivos (factor A) y ubicación dentro del lote (factor B), con dos niveles por cada factor: nivel 1 y 2 (para el factor secuencia) y nivel Cabecera y Centro (para el factor Ubicación). Como se muestra en la **Figura 3.1**, se realizaron tres repeticiones por cada secuencia de cultivos(lote) y dentro de cada lote se muestreó en dos ubicaciones(Cabecera y Centro).Debido a la alta variabilidad propia de la medición de N_2O en cada combinación de secuencia de cultivos y ubicación en el lote se obtuvieron tres muestras (Cámaras) tanto de N_2O como de las principales variables reguladoras de la emisión (temperatura, EPSA y $N-NO_3^-$).

Las mediciones se realizaron estacionalmente (aproximadamente cada tres meses) durante dos años en dos secuencias de cultivo temporalmente desfasadas. La secuencia 1 comenzó con un rastrojo de soja de primera y fue: rastrojo de soja de primera – trigo/soja de segunda – maíz; mientras que la secuencia 2 comenzó con un rastrojo de soja de segunda y fue: rastrojo de soja de segunda – maíz – soja de primera

(**Cuadro 3.1**). Esto permitió mediciones en distintos cultivos pero bajo las mismas condiciones ambientales. La presencia de diferentes cultivos en una misma época del año se observa habitualmente en la zona de estudio. De esta manera se pretendió captar la posible variabilidad en la emisión de N_2O a través de las estaciones.

Con el fin de poner a prueba la hipótesis, sobre el efecto de la ubicación dentro del lote en la emisión de N_2O se tomaron muestras en dos ubicaciones con estructura contrastante dentro del lote. Dentro de cada lote- tres lotes con la secuencia de cultivo 1 y tres lotes con la secuencia de cultivo 2- se realizaron tres repeticiones por zona, en dos ubicaciones con diferente frecuencia de tránsito, Cabecera (mayor frecuencia de tránsito) y Centro de lote (menor frecuencia de tránsito, **Figura 3.1**).

Cuadro 3.1. Esquema de las dos secuencias de cultivos durante los dos años de muestreo. La secuencia 1 comenzó con un rastrojo de soja de primera y fue: rastrojo de soja de primera – trigo/soja de segunda – maíz; mientras que la secuencia 2 comenzó con un rastrojo de soja de segunda y fue: rastrojo de soja de segunda – maíz – soja de primera. Las cruces corresponden al momento en el que fue realizada una o más de las siguientes tareas: toma de muestras, siembra, fertilización nitrogenada y cosecha. rast. = rastrojo.

Secuencia 1	rast. soja 1ra			trigo			rast. trigo		soja 2da			rast. Soja 2da						maíz							
	2009									2010												2011			
Fecha de	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic		Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic		Ene	Feb	Mar
muestreo		X		X			X					X			X				X		X			X	
siembra				X						X										X					
fertilización N				X																	X				
cosecha							X						X												
Secuencia 2	rast. soja 2da						maíz						rast. Maíz						soja 1ra						
	2009									2010												2011			
Fecha de	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic		Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic		Ene	Feb	Mar
muestreo		X		X			X					X			X				X		X			X	
siembra							X													X					
fertilización N							X																		
cosecha												X													

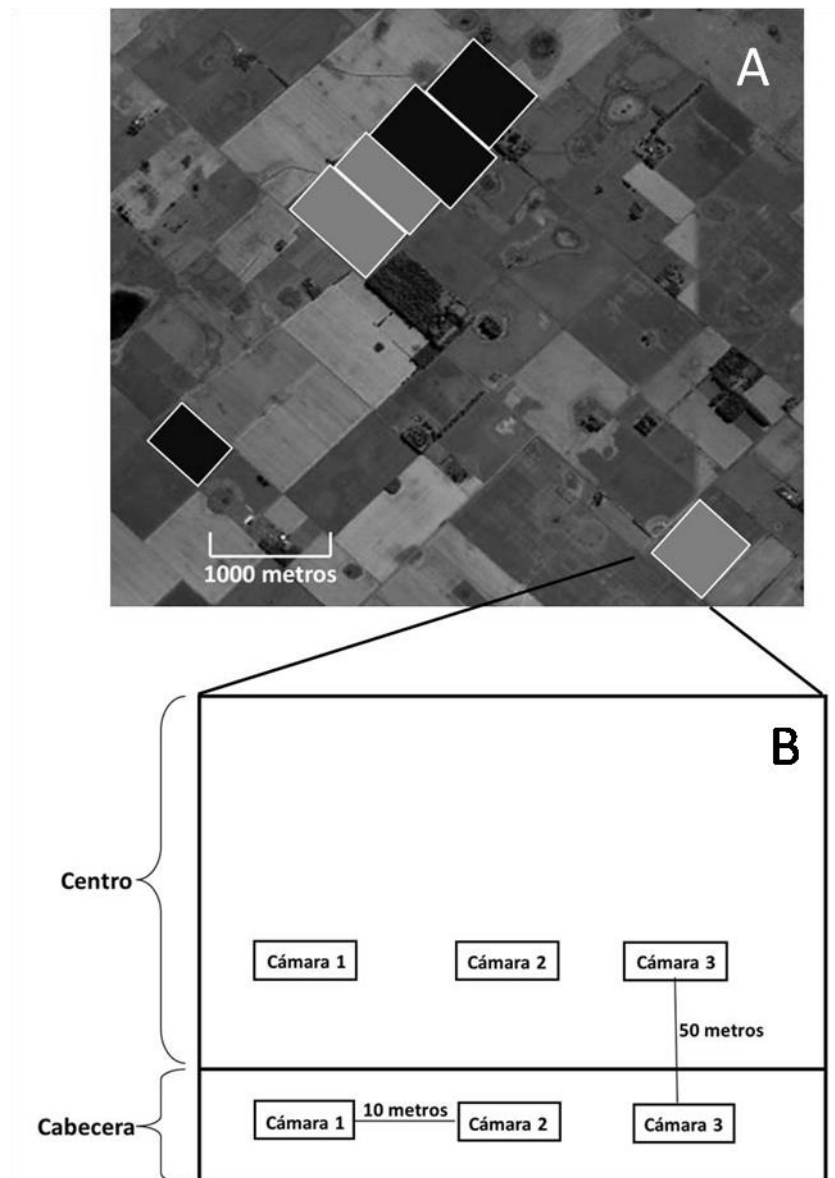


Figura 3.1. Distribución espacial de los lotes experimentales dentro del campo (A) y ubicación de las cámaras dentro de cada lote (B). Los cuadros grises corresponden a la secuencia de cultivo 1 mientras que los negros corresponden a la secuencia 2.

Dado que este ensayo se realizó en lotes en producción, hubo que retirar las bases de hierro una vez finalizados los muestreos y volver a colocarlas 24 horas antes del siguiente muestreo. Este procedimiento llevó a que fuera necesario añadir 15 mm de agua dentro de cada base luego de la inserción, con el fin de asegurar un sellado adecuado entre ésta y el suelo antes del muestreo del N_2O . Esta adición de agua podría significar un pequeño aumento en los valores de EPSA, en cada fecha de muestreo.

3.4.3 Determinaciones iniciales

Con el fin de caracterizar el sitio de estudio, al inicio del ensayo se determinó el contenido de C orgánico total (CO) por el método de combustión húmeda (Walkey y

Black, 1934) y el pH en solución 1:2,5 agua destilada. Para ello se tomó una muestra compuesta por cada combinación de secuencia de cultivos y ubicación en el lote (Cabecera y Centro), para cada uno de los lotes de estudio.

Se determinaron también la Dap, la resistencia a la penetración y la tasa de infiltración. Para ello se tomaron tres muestras por combinación de secuencia de cultivos y ubicación en el lote. Esto se realizó para cada ubicación (Cabecera y Centro) dentro de los lotes de estudio, con un valor final para cada ubicación que fue el promedio de las tres muestras. La Dap se determinó por el método del cilindro (100 cm³; 0,05 m de diámetro) (Blake, 1965). La resistencia a la penetración se realizó mediante la utilización de un penetrómetro digital (Fieldscout SC-900 ®) con un ángulo de punta igual a 30°. Este instrumento registró los valores de resistencia a la penetración a intervalos de 25mm durante los primeros 0,20 m de profundidad. Los valores de resistencia fueron corregidos por la humedad del suelo. Finalmente, para determinar la tasa de infiltración se utilizó el método de anillo simple desarrollado por el Soil Quality Institute (1999). El anillo del infiltrómetro de 0,15 m de diámetro fue clavado hasta los 0,08 m, y la superficie expuesta dentro del anillo fue cubierta por un plástico. Se procedió a la aplicación de una lámina de agua destilada igual a 444 mL dentro del anillo y se tomó el tiempo requerido para la infiltración de la primera lámina de agua (infiltración 1) luego de removido el plástico. Esta lámina es utilizada para homogeneizar la humedad del suelo. Después de la determinación de la tasa de infiltración 1, fue aplicada una segunda lámina de 444 mL de agua destilada de la misma manera en que se había realizado previamente, y la tasa de infiltración fue tomada nuevamente (infiltración 2). El valor que se utilizó para analizar la tasa de infiltración en cada una de las ubicaciones fue la infiltración 2.

3.4.4 Determinación de la emisión de N₂O

Las muestras de N₂O fueron colectadas con las mismas cámaras que las utilizadas en el ensayo del Capítulo 2 de esta tesis, durante la mañana (9 a 12 a.m.), horario del día que mejor representó la emisión de N₂O media diaria en el suelo de estudio. Las cámaras fueron ubicadas en forma perpendicular al surco de los cultivos, de manera de contener la proporción de surco y entresurco más representativa de cada cultivo. Las bases fueron removidas para permitir la siembra y cosecha de los cultivos, y luego fueron relocalizadas aproximadamente en los mismos sitios. Las mediciones de N₂O fueron realizadas por triplicado para cada ubicación –tres en Cabecera y tres en el Centro- de cada lote (**Figura 3.1**).

Las muestras de N₂O fueron extraídas del interior de las cámaras luego de la colocación de la parte superior de la cámara (cámara plástica). La colección, el análisis cromatográfico y el cálculo de la emisión de N₂O se realizaron siguiendo las metodologías descritas en el Capítulo 2 de esta tesis.

Para verificar la linealidad en la emisión de N₂O desde el suelo, se recurrió al análisis de regresión lineal. Cuando el coeficiente de determinación (R²) de la función lineal fue mayor que 0,7 la pendiente de la función (ya sea positiva o negativa)

representó la emisión de N_2O mientras que cuando el R^2 fue menor que 0,7 y/o la función lineal no pudo ser ajustada (regresión no significativa), la tasa de emisión de N_2O en el intervalo fue considerado cero. Los valores mínimos detectables (distinguibiles de cero) se encontraron o bien por encima de $0,3 \mu\text{g de N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (valores de emisión de N_2O) o bien por debajo de $-0,3 \mu\text{g de N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (valores de absorción de N_2O). Todos los valores de emisión, absorción de N_2O o cero fueron incluidos en el análisis.

3.4.5 Otras determinaciones

Conjuntamente con la toma de muestras del N_2O , en cada fecha de muestreo se midió la temperatura del suelo cercano a las cámaras a los 0,10 m de profundidad y la temperatura del aire a la sombra sobre la superficie del suelo para todos los lotes, tratamientos y repeticiones. En cada muestreo, después de tomar la muestra de N_2O , fueron colectadas muestras de suelo del interior de las cámaras y llevadas al laboratorio para determinar la concentración de N-NO_3^- , la Dap, el CHg; y calcular la PT y el porcentaje del EPSA. La obtención de las muestras y las determinaciones se realizaron con los métodos descritos en el Capítulo 2 de esta tesis.

Con el fin de determinar la tasa de secado del suelo (expresada como variación del EPSA en función del tiempo) para las diferentes ubicaciones dentro del lote, se tomaron muestras no disturbadas ubicadas en la zona de Cabecera y Centro, en tres de los seis lotes de estudio. En invernáculo, se procedió a humedecer las muestras intactas hasta saturación y luego, mediante el uso de un sensor de humedad (www.cavadevices.com), se siguió la evolución de la humedad del suelo. El sensor de humedad presentó una frecuencia de registro de una hora y permaneció en el suelo hasta el secado total de la muestra, aproximadamente a los 40 días posterior a la saturación del suelo intacto.

3.5 Análisis estadístico

Para verificar la linealidad en la emisión de N_2O desde el suelo hacia la atmósfera, se recurrió a un análisis de regresión lineal igual al descrito en el Capítulo 2 de esta tesis. Se realizaron regresiones entre el EPSA y la temperatura del suelo, y entre la emisión de N_2O y la concentración de N-NO_3^- del suelo. También se realizaron análisis de varianza para evaluar la diferencia entre ubicaciones del lote y entre rectas.

Se realizó un análisis de árbol de regresión basado en el procedimiento propuesto por Morgan y Sonquist (1963), para relacionar la tasa de emisión de N_2O con el resto de las variables medidas. En aquellos casos en los que fue posible, se realizaron análisis de regresión entre la emisión de N_2O con alguna de sus variables reguladoras.

Para evaluar si hubo diferencia en la tasa de secado entre las ubicaciones, se ajustaron los valores obtenidos cada hora durante los 40 días a una recta y se realizó un ANOVA entre rectas. Todos los análisis se realizaron mediante la utilización del programa estadístico Infostat (Infostat, 2010).

3.6 Resultados

3.6.1 Propiedades edáficas, detección de estructuras desfavorables y propiedades físicas del suelo

Al comienzo del experimento el suelo presentó un contenido de CO de 19,96 con un error estándar 0,5 g kg⁻¹ en Cabecera y un contenido de CO 20,72 con un error estándar de 0,5 en Centro. El pH presentó un valor de pH de 5,75 con un error estándar de 0,2 en Cabecera y un valor de 5,66 con un error estándar de 0,1 en el Centro de lote para el horizonte superficial.

El tipo de estructura desfavorable (laminar y/o masiva) a partir de la identificación visual difirió en su proporción y espesor entre las ubicaciones de Cabecera y Centro de lote. En la ubicación de la Cabecera se observó mayor proporción y espesor de ambos tipos de estructuras; mientras que en el centro del lote, se observó menor proporción y espesor de estas estructuras desfavorables y presencia de estructura granular.

Los valores de Dap no mostraron diferencias significativas ($p = 0,39$) entre Cabecera y Centro de lote, pero fueron en promedio menores en el centro (1,3 \pm 0,03 g cm⁻³) que en la cabecera (1,37 \pm 0,04 g cm⁻³) de lote (**Figura 3.2**). La tasa de infiltración presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) con mayor tasa para el tratamiento de Centro de lote sólo en uno de los lotes de estudio (lote D). En tres de los cinco lotes restantes (Lotes A, B y C) se observó una tendencia (no significativa) a mayores tasas de infiltración en Centro que en Cabecera de lote. Finalmente, los lotes C y E mostraron tendencias opuestas, con mayor tasa de infiltración en la Cabecera (**Figura 3.3**). La resistencia a la penetración presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) sólo en uno de los lotes (Lote E) con valor inferior para la ubicación del Centro de lote. Sin embargo, en todos los lotes se observó una tendencia clara de menor resistencia a la penetración en la ubicación de Centro de lote (**Figura 3.4**). En todos los casos, pero en especial en la tasa de infiltración y la resistencia a la penetración, se registró una elevada variabilidad entre repeticiones. La tasa de secado del suelo, medida en condiciones de invernáculo, fue mayor en las muestras de suelo tomadas en el Centro del lote (**Figura 3.5**).

La tendencia en la diferencia de Dap, infiltración, resistencia a la penetración y tasa de secado entre las diferentes ubicaciones dentro del lote, no se vio reflejada en los valores de emisión de N₂O. La emisión de N₂O no presentó diferencia significativa entre ubicaciones del lote (**Figura 3.6**).

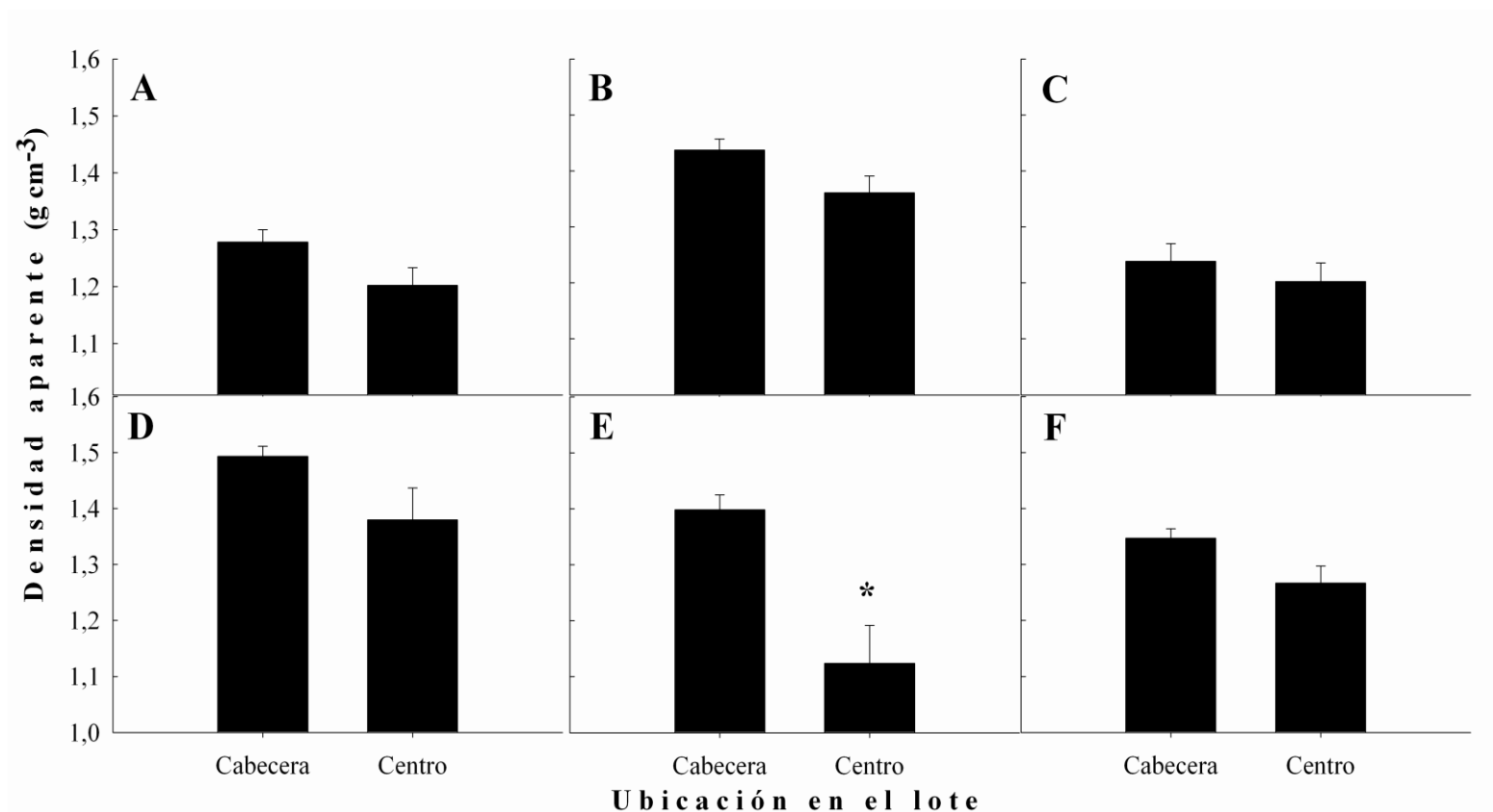


Figura 3.2. Densidad aparente (barras verticales) para las diferentes ubicaciones dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y la secuencia 2 (D, E y F) al comienzo del ensayo. Las líneas verticales con límite máximo por encima de cada barra representan el error estándar. El Asterisco representa diferencia significativa ($p < 0,05$) en el valor de la densidad aparente entre los niveles de tratamientos.

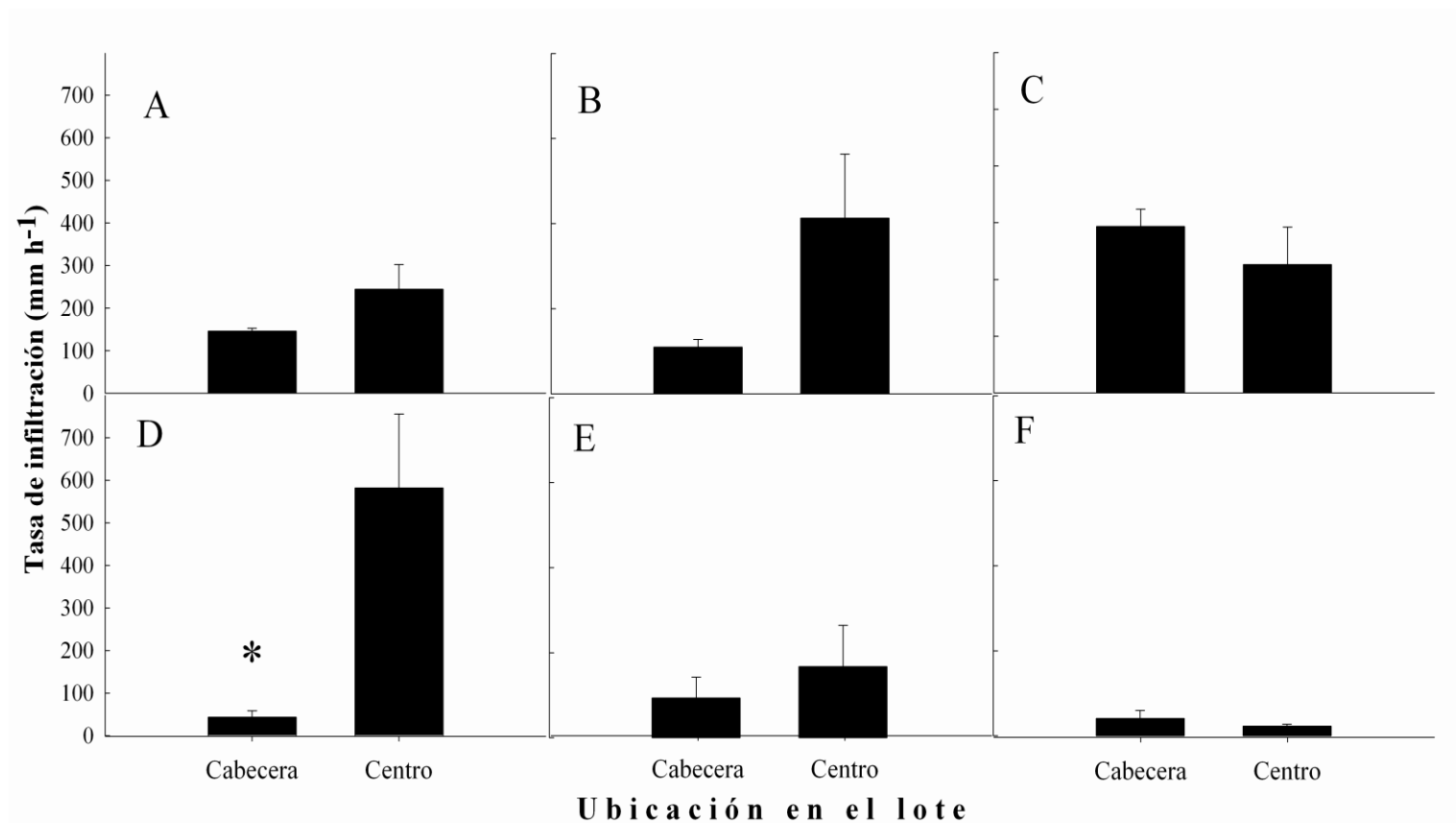


Figura 3.3. Tasa de infiltración (barras verticales) en función de la ubicación dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y para la secuencia 2 (D, E y F) al comienzo del ensayo. Las líneas verticales con límite máximo por encima de cada barra representan el error estándar. El asterisco representa diferencia significativa ($p < 0,05$) en las tasas de infiltración entre los niveles de tratamientos.

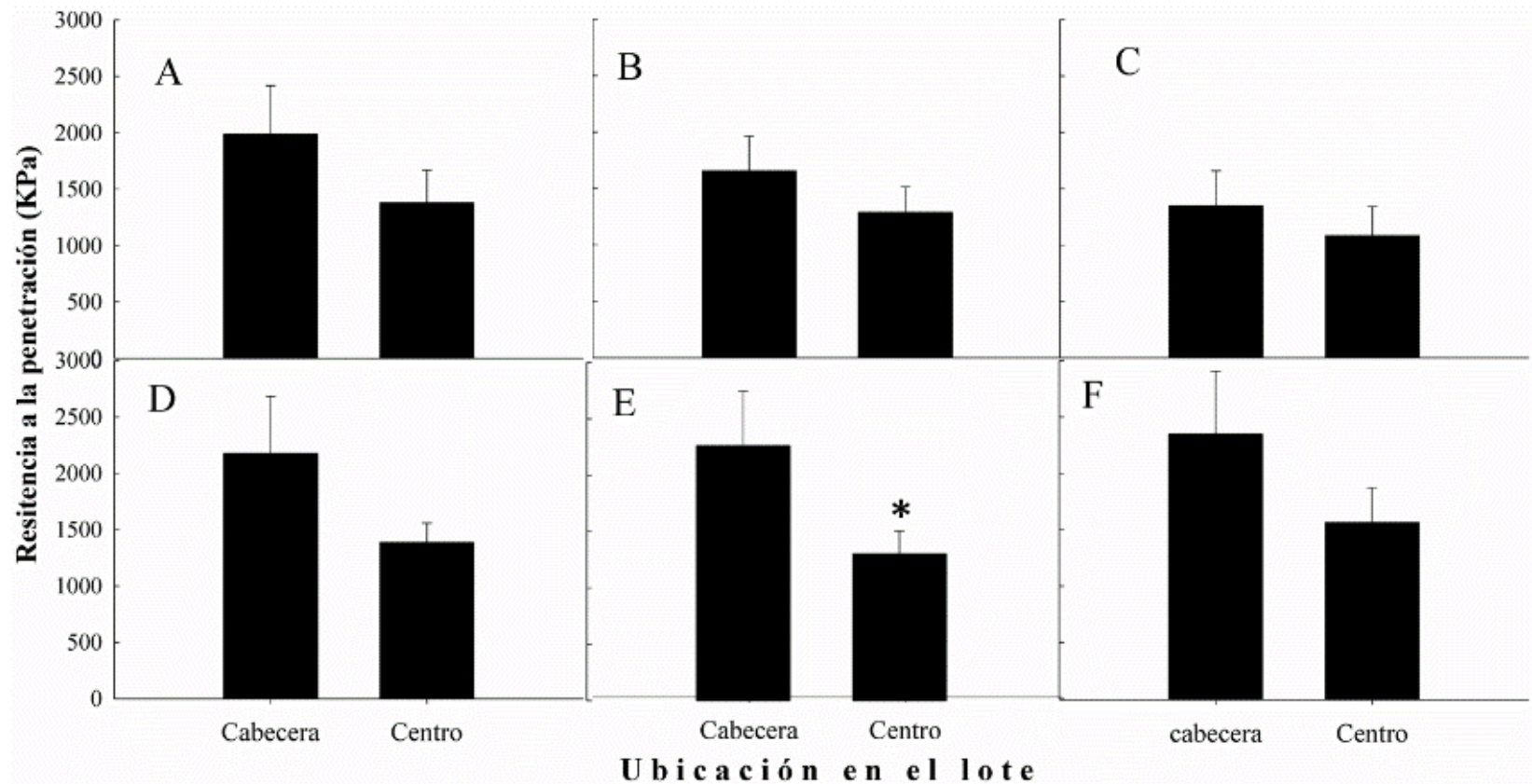


Figura 3.4. Resistencia a la penetración (barras verticales) en función de la ubicación dentro del lote para la secuencia 1 (A, B y C) y para la secuencia 2 (D, E y F) al comienzo del ensayo. Las líneas verticales con límite máximo por encima de cada barra representan el error estándar. El asterisco representa diferencia significativa ($p < 0,05$) en la resistencia a la penetración entre los niveles de tratamientos.

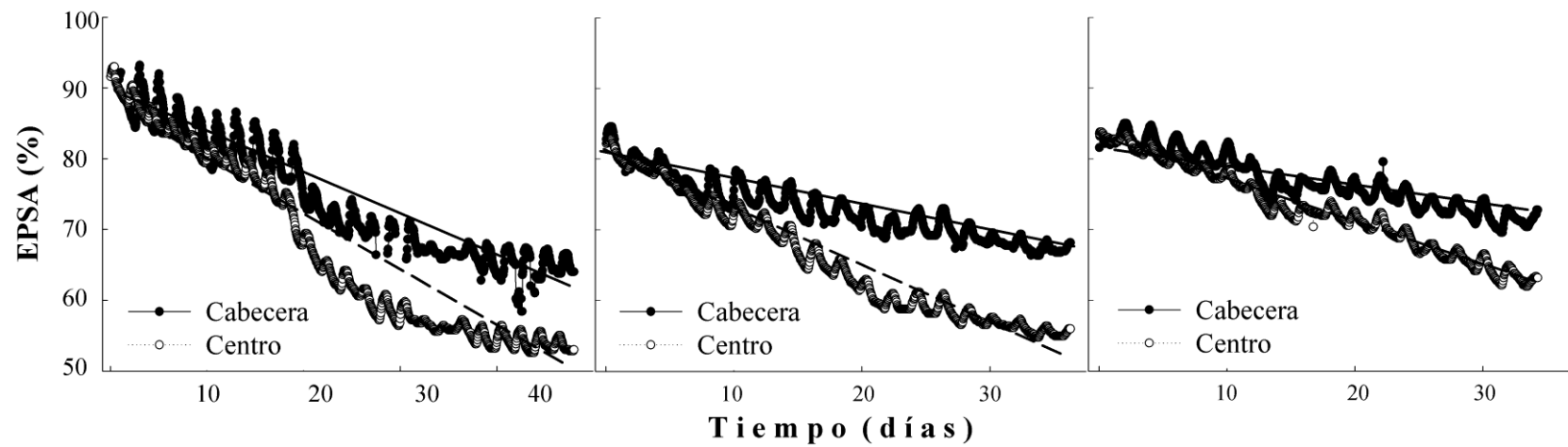


Figura 3.5. Variación del espacio poroso saturado de agua (EPSA) en función del tiempo para tres muestras de suelo intacto de Cabecera y Centro de lote. Para los tres casos la diferencia entre las pendientes fue altamente significativa ($p < 0,001$).

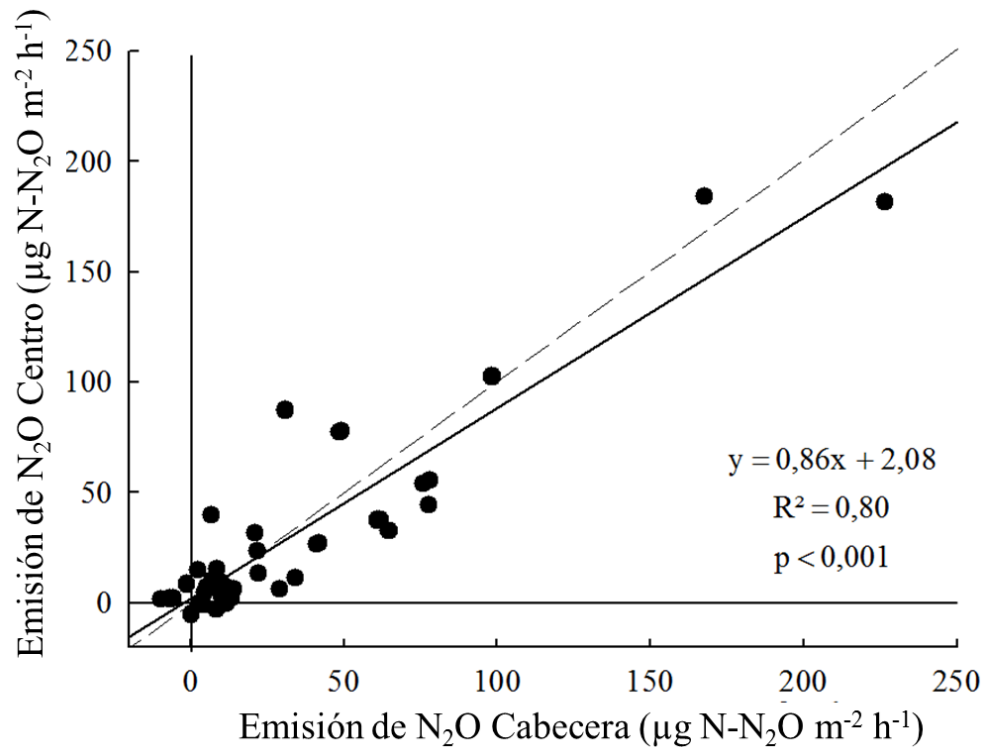


Figura 3.6. Relación entre la emisión de N_2O en el Centro y en la Cabecera del lote. Dentro del gráfico se presenta la ecuación de la recta con su respectivo ajuste y nivel de significancia. La recta punteada representa la relación 1:1. Ambas rectas no difirieron estadísticamente ($p = 0,61$).

3.6.2. Análisis de las principales variables que regulan la emisión de N_2O a campo.

Durante el período de estudio, la tasa de emisión de N_2O varió entre -15 y 314 $\mu g\ N-N_2O\ m^{-2}\ h^{-1}$, mostrando gran variabilidad incluso entre repeticiones dentro de un mismo lote. Cuando se graficó la emisión de N_2O en función de las principales variables medidas (EPSA, $N-NO_3^-$, Temperatura), no se observó ninguna relación clara, del tipo de ajuste lineal o curvo (**Figura 3.7**). Para el contenido de nitrato (**Figura 3.7b**) no se observó ningún tipo de ordenamiento, mientras que, para el EPSA (**Figura 3.7a**) y la temperatura del suelo (**Figura 3.7c**) se percibió un ordenamiento de los datos con una “ventana” intermedia de alta variabilidad en la emisión de N_2O , mientras que fuera de esa “ventana” la emisión de N_2O siempre fue inferior y menos variable. Este patrón de distribución de la emisión de N_2O en a torno un rango o “ventana” fue más evidente en el caso de la temperatura del suelo (**Figura 3.7C**). En efecto, la emisión de N_2O fue alta y muy variable, cuando la temperatura del suelo se encontró entre los 14 °C y los 23°C, mientras que la misma fue baja y menos variable cuando la temperatura del suelo se encontró por debajo de los 14 °C o por encima de 23 °C. Se observó una relación negativa, con alta dispersión entre la temperatura del suelo y EPSA con $R^2 = 0,137$ y $p < 0,0001$ (**Figura 3.8**).

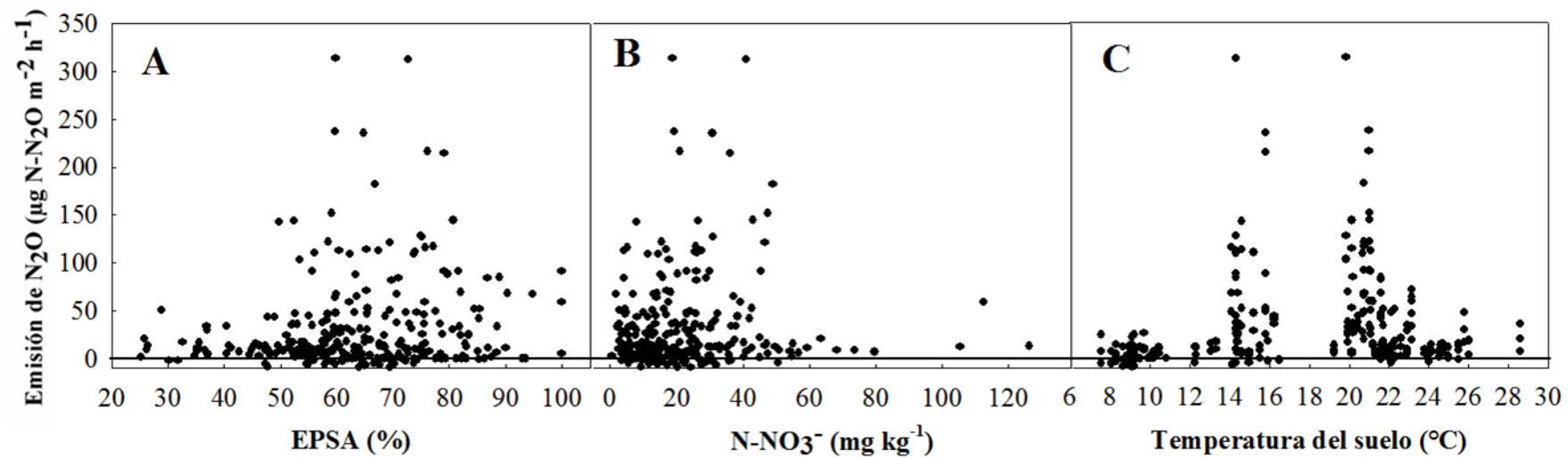


Figura3.7. Relación entre la emisión de óxido nitroso (N₂O) en función del espacio poroso saturado de agua (EPSA) (A), concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO₃⁻)(B) y temperatura del suelo (C).

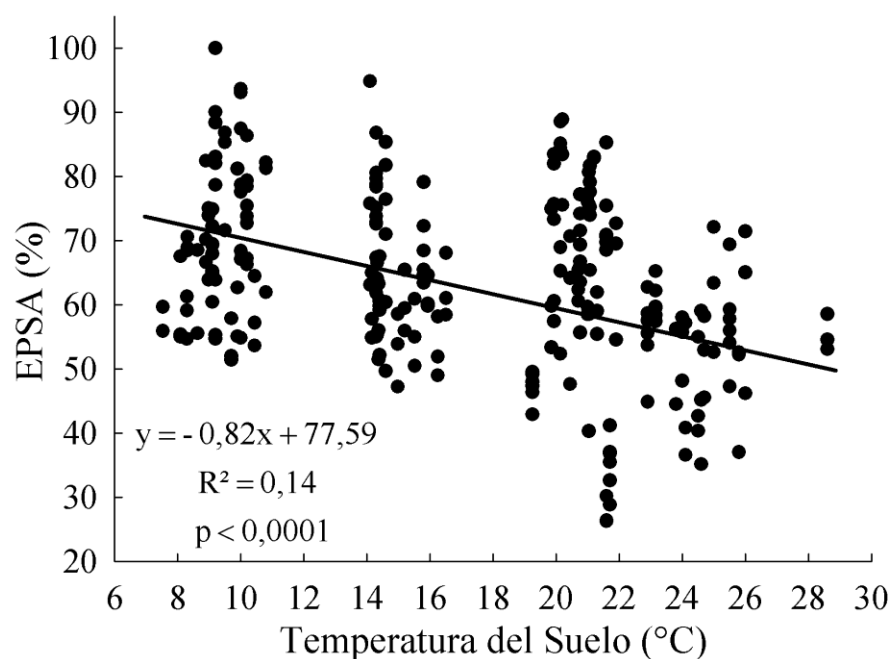


Figura 3.8. Relación entre el EPSA y la temperatura del suelo.

El análisis del árbol de regresión mostró tres grupos de emisión de N_2O , cuyos valores difirieron significativamente ($p < 0,001$) (**Figura 3.9**): Grupo I: baja emisión de N_2O $4,22 \pm 4,11 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$; Grupo II: alta de emisión de N_2O $61,87 \pm 4,07 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$; y Grupo III: moderada emisión de N_2O $21,4 \pm 5,01 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. La emisión de N_2O baja (Grupo I) se produjo durante el invierno, cuando la temperatura del suelo fue siempre inferior a los 14°C . Esto se observó en ambas secuencias de cultivo para los muestreos de junio y agosto de 2009 y junio de 2010 (**Figura 3.10**). En este caso, la emisión de N_2O no mostró relación con ninguna de las variables medidas. La emisión de N_2O alta (grupo II) fue el resultado de la temperatura del suelo superior a los 14°C y el EPSA mayor que 58,5% (**Figura 3.9**). Estos valores de emisión se observaron en los muestreos de noviembre de 2009 (secuencia de cultivos 2, **Figura 3.10**), y marzo y octubre de 2010 (secuencias de cultivo 1 y 2, **Figura 3.10**). Finalmente, la emisión de N_2O moderada (Grupo III) se produjo cuando la temperatura del suelo superó los 23°C , con EPSA por debajo del 58,5% (**Figura 3.9**). Estos valores fueron observados en noviembre de 2009 (secuencia de cultivos 1, **Figura 3.10**), y diciembre de 2010 y febrero de 2011 (secuencias de cultivo 1 y 2, **Figura 3.10**).

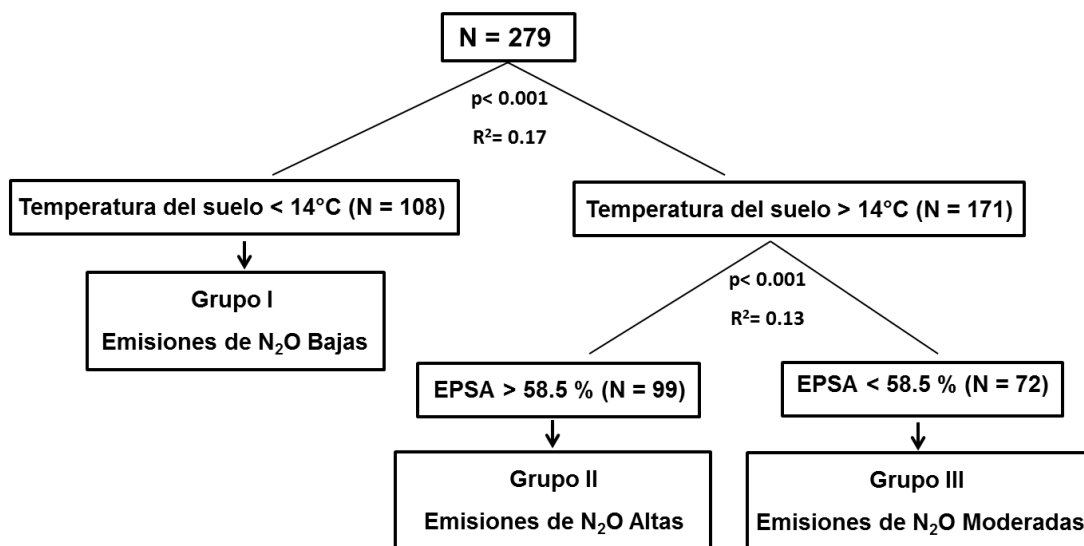


Figura 3.9. Resultados del análisis de árbol de regresión, mostrando las principales variables que afectan la emisión de óxido nitroso (N₂O) y sus valores umbral.

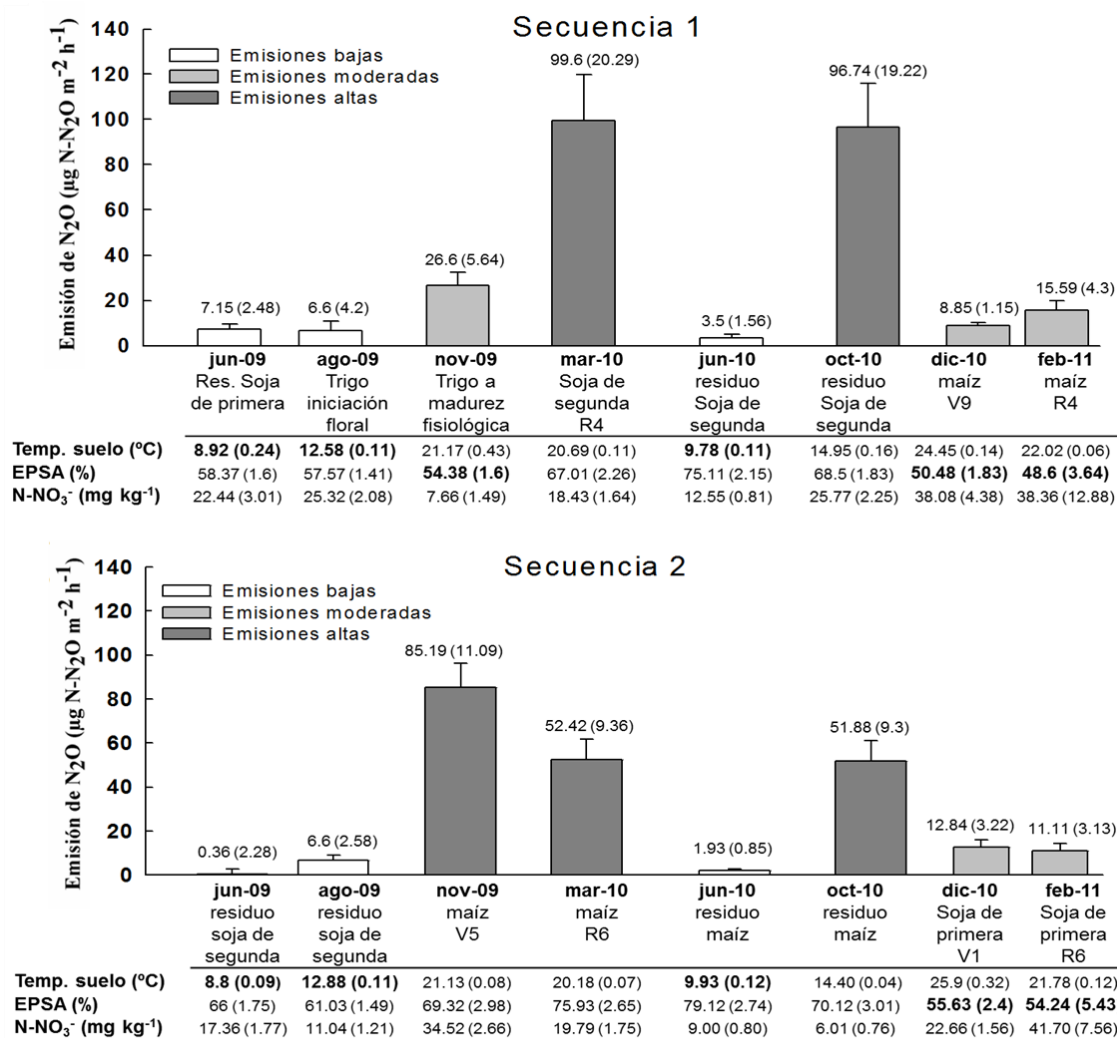


Figura 3.10. Emisión de óxido nitroso (N₂O) durante el período de estudio para ambas secuencias de cultivos (barras). Las líneas verticales con límite máximo por encima de cada barra representan el error estándar. Los valores por encima de las barras corresponden a la emisión de N₂O media y a sus respectivos (errores estándar). Debajo de cada gráfico, se muestran los valores medios y (errores estándar) para la temperatura del suelo, el espacio poroso saturado de agua (EPSA) y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO₃⁻) del suelo.

Las emisiones alta y moderada de N₂O (Grupos II y III) se relacionaron positivamente con la concentración de N-NO₃⁻ del suelo. Sin embargo, las pendientes de las rectas que describen estas relaciones fueron diferentes para cada cultivo y grupo de emisión. En los cultivos de gramíneas -trigo y maíz-y para el barbecho del cultivo de soja, fue posible ajustar rectas de regresión con coeficientes de determinación significativos ($p < 0,01$), pero no elevados. Por el contrario, en el cultivo de soja no se encontró una clara relación entre los valores de emisión de N₂O y la concentración de N-NO₃⁻ del suelo, independientemente del grupo de emisión (**Figura 3.11**).

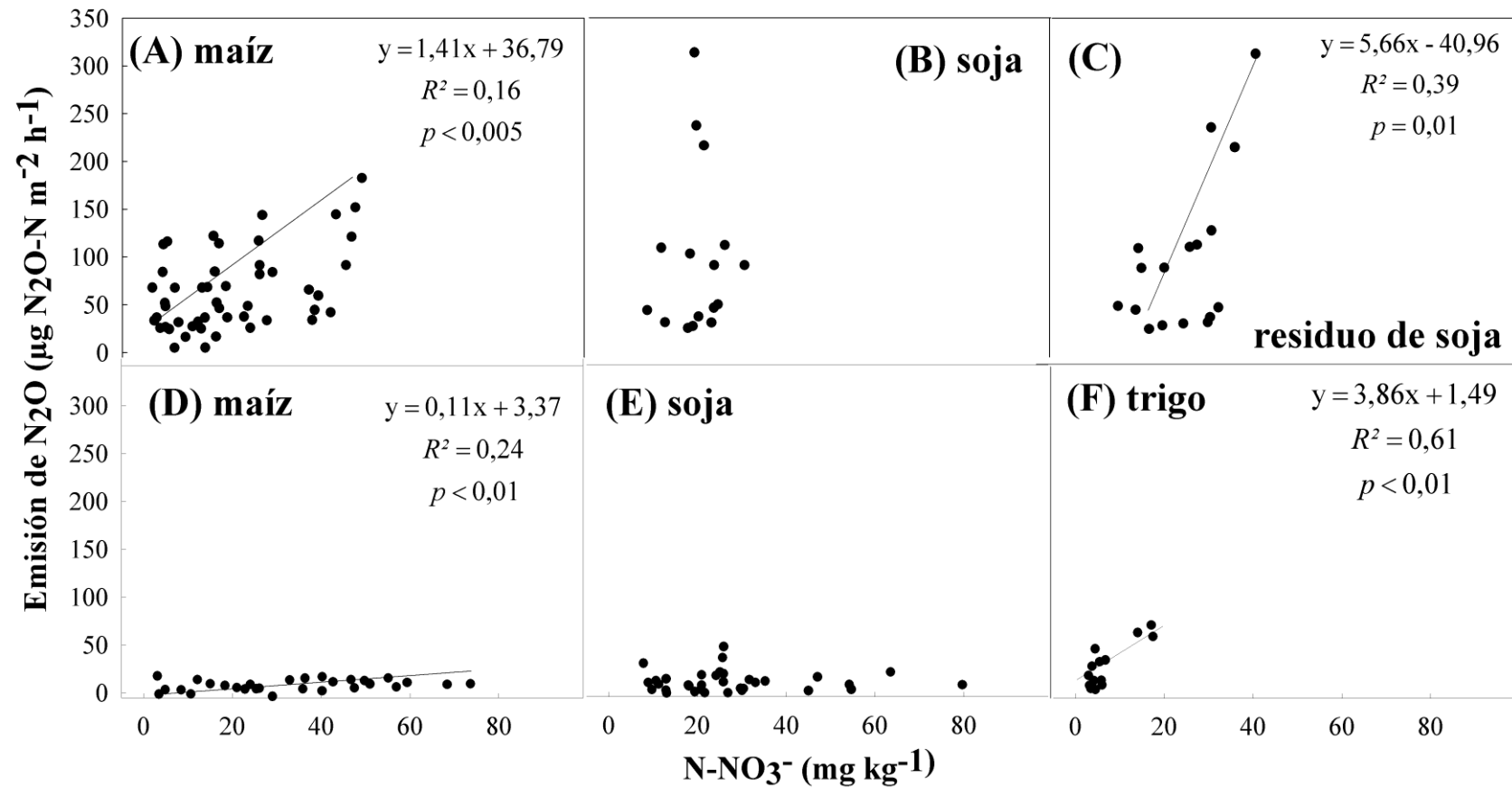


Figura 3.11. Relación entre la emisión de N₂O y la concentración de nitrógeno en forma de nitrato(N-NO₃⁻) del suelo para diferentes cultivos y residuos. A, B y C: Alta emisión de N₂O (grupo II, Figura 3.9). D, E y F: emisión moderada de N₂O (grupo III, Figura 3.9). Dentro de los gráficos se presenta la ecuación de la recta con su respectivo ajuste y nivel de significancia.

3.7 Discusión

Las diferencias observadas en la tasa de secado del suelo entre Cabecera y Centro del lote (**Figura 3.5**) mostraron que ante un mismo evento de lluvia o riego, y bajo las mismas condiciones ambientales, el suelo correspondiente a la ubicación de la cabecera del lote permanece húmedo más tiempo que aquel que se encuentra fuera de la cabecera. A mayor humedad del suelo, es mayor el EPSA y la proporción del suelo que se encuentra en anaerobiosis. El proceso de desnitrificación (anaeróbico) emite mayor cantidad de N_2O que el proceso de nitrificación (aeróbico). Por este motivo, la menor tasa de secado en el tratamiento de la Cabecera del lote podría aumentar la emisión de N_2O , debido a que tarda más en producirse el cambio del proceso responsable de la formación de N_2O desde anaeróbico (desnitrificación) a aeróbico (nitrificación). En el futuro, sería conveniente evaluar cómo el secado diferencial afecta la emisión de N_2O en cortos periodos de tiempo.

Ambas posiciones -Cabecera y Centro- de lote difirieron en la presencia detectada visualmente de estructuras no favorables (laminar y masiva), con predominancia de ambas en la zona de Cabecera de lote, en concordancia con resultados previos en el sitio de estudio (Álvarez et al., 2014). Estas diferencias en tipo de estructura no fueron acompañadas por diferencias significativas en las propiedades físicas evaluadas. No obstante, hubo una tendencia a menor de tasa de infiltración (**Figura 3.3**), mayor valor de Dap (**Figura 3.2**) y mayor resistencia a la penetración (**Figura 3.4**) en la zona de Cabecera de lote. No es la primera vez que estas propiedades físicas muestran escasa sensibilidad como indicadores, dada su elevada variabilidad a campo en la región bajo estudio (Taboada et al., 1998; Álvarez et al., 2009). A pesar de esto, se observó una diferencia altamente significativa ($p < 0,01$) en la tasa de secado del suelo entre las ubicaciones del lote, con mayor velocidad de secado en la ubicación del Centro (**Figura 3.5**). Las tendencias halladas en las variables físicas y la diferencia en la tasa de secado entre ubicaciones no se vieron reflejadas en diferente emisión de N_2O en las distintas ubicaciones del lote (**Figura 3.6**).

La ausencia de diferencias significativas en la emisión de N_2O entre ubicaciones de lote permitió que se reunieran los datos de ambas ubicaciones para el análisis posterior. La observación de los valores de emisión de N_2O en la **Figura 3.10** sugiere la existencia de tres grupos con diferente de tasa de emisión de N_2O : alta (marzo y octubre 2010, en la secuencia 1, y noviembre 2009 y marzo y octubre 2010, en la secuencia 2); moderada (noviembre 2009, diciembre y febrero 2011, en la secuencia 1, y diciembre y febrero 2011 en la secuencia 2); y baja (junio y agosto 2009, y junio 2010, en las secuencias 1 y 2). Cada uno de estos grupos de emisión de N_2O pudo estar asociado a la limitación ejercida por una o más de las variables de estudio, tal como lo postula la teoría de la estequiometría ecología para los microorganismos. La teoría de la estequiometría ecología hace referencia a cómo el desbalance entre elementos y factores afecta a los microorganismos y limita sus procesos fisiológicos. Estas variables afectan de manera diferencial los procesos de nitrificación y desnitrificación llevados a cabo por los microorganismos, y como resultado, afectan la emisión de N_2O desde el suelo. Se observó, además que dependiendo de cuál fue la variable que parecería haber regulado la emisión de N_2O , la tasa fue diferente. Esto nos lleva a pensar no sólo en la limitación por una o más variables, sino también en la existencia de una jerarquía entre las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O .

La primera variable que limitó la emisión de N_2O fue la temperatura del suelo, la cual separó al grupo de baja emisión (Grupo I) del resto (**Figuras 3.9 y 3.10**). La emisión de N_2O correspondiente a este grupo se observó durante los meses de invierno cuando la temperatura del suelo fue inferior a los $14^{\circ}C$. Sobre este grupo de emisión, la temperatura del suelo tuvo un efecto directo, probablemente debido a una disminución de la actividad microbiana del suelo, lo que influyó en la emisión de N_2O (Keeney et al., 1979; Trumbore et al., 1996; Farquharson y Baldock, 2008; Maljanen et al., 2009).

Los resultados de esta Tesis coinciden con los observado por Alvarez et al. (2012) en la Región Pampeana semiárida, quienes encontraron que la emisión de N_2O durante el período invierno-primaveral (barbecho) fue en general baja. Sin embargo, Alvarez et al. (2012) atribuyen los bajos valores de emisión de N_2O al bajo EPSA, el cual disminuyó el proceso de desnitrificación por baja cantidad de sitios anaeróbicos. Los resultados de ambos ensayos realizados en dos zonas contrastantes de la Región Pampeana (zona húmeda y semiárida), presentaron valores de emisión de N_2O durante el periodo invernal similares y bajos, incluso con valores negativos. Sin embargo, la variable ambiental que determinó el bajo valor de emisión de N_2O fue diferente. En nuestro sitio de estudio (zona húmeda), la principal variable que limitó la emisión de N_2O fue la temperatura del suelo mientras que en la zona semiárida fue la falta de humedad edáfica.

Los resultados del presente Capítulo también son consistentes con lo observado por Trumbore et al. (1996), quienes también observaron disminución de la actividad microbiana con el descenso en la temperatura del suelo. Sin embargo, nuestros resultados se oponen a lo encontrado por Maljanen et al. (2009) en suelos de Finlandia, donde se observó emisión de N_2O incluso a temperatura bajo cero ($-6,8^{\circ}C$). La emisión de N_2O pudo mantenerse incluso a baja temperatura posiblemente por tratarse de suelos que son sometidos regularmente a procesos de congelamiento, por lo que podría esperarse que presentaran una comunidad microbiana adaptada a las bajas temperaturas. Este no es el caso de los suelos pertenecientes a la región templada como la PO Argentina, lo que nos permite inferir que en la zona de estudio las comunidades microbianas son probablemente incapaces de producir N_2O a baja temperatura.

La emisión de N_2O fue alta y muy variable, cuando la temperatura del suelo se encontró entre 14 y $23^{\circ}C$ y el porcentaje de EPSA fue superior al 58,3% (Grupo II, **Figuras 3.9 y 3.10**). Esta variación en la emisión de N_2O se encontró positivamente relacionada con la concentración de $N-NO_3^-$ suelo, como se observa para el cultivo de maíz y el residuo del cultivo de soja (**Figura 3.11**). Los coeficientes de determinación del orden del 20% deben ser atribuidos a la elevada variabilidad que poseen las determinaciones de N_2O a campo.

Eventos caracterizados por alta temperatura y alto EPSA podrían favorecer la producción relativamente alta de N_2O , por ejemplo cuando se encuentran acompañados por una concentración suficientemente alta de NO_3^- en el suelo (Castaldi, 2000). En el sitio de estudio, la concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo nunca limitó la emisión de N_2O , dado que siempre se encontró por encima de $5\text{ mg }N-NO_3^-\text{kg}^{-1}$ (Dobbie et al., 1999).

De acuerdo con Dalal et al. (2003) la tasa de desnitrificación aumenta con el aumento en el contenido de N-NO_3^- , siempre y cuando el suelo presente una situación favorable de humedad, temperatura y disponibilidad de C. Esto se produce debido a que la presencia de NO_3^- inhibe la reducción de N_2O a N_2 , lo que resulta en una alta proporción relativa $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ a similares condiciones de humedad y contenido de O_2 . Dalal et al. (2010) encontraron una correlación positiva entre la emisión de N_2O y el contenido de NO_3^- del suelo, cuando la temperatura del suelo varió entre los 10 y los 30 °C y el EPSA fue de entre 30 y 80%. Por el contrario, los resultados de un ensayo de campo en Dinamarca sin agregado de fertilizante y con EPSA entre 50 y 70% mostraron una relación negativa entre la emisión de N_2O y la concentración de N-NO_3^- del suelo (Ambus, 2005).

La emisión de N_2O fue moderada cuando la temperatura del suelo superó los 14 °C y el EPSA se encontró por debajo del 58,3% (grupo III, **Figuras 3.9y 3.10**). Esta tasa moderada de emisión de N_2O fue menor que la observada en experimentos realizados bajo condiciones controladas, los cuales mostraron un aumento en la emisión de N_2O con el aumento de la temperatura, incluso hasta valores tan altos como 70 °C (Keeney et al, 1979; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern, 2004). Estos altos valores de emisión de N_2O son posibles cuando la temperatura creciente conduce a un aumento en el tamaño de las zonas anaeróbicas del suelo (Li et al., 2000), como consecuencia de una alta tasa de respiración, lo que resulta en un mayor volumen de suelo desprovisto de O_2 (Smith et al., 2003). La ausencia de O_2 en el suelo conduce al aumento en el proceso de desnitrificación. Sumado a esto, la mayor temperatura del suelo provoca un aumento en la actividad microbiana y un aumento en la solubilidad del gas (Farquharson y Baldock, 2008). Esto lleva al aumento en la pérdida de N_2O hacia la atmósfera antes de ser reducido a N_2 (Dalal et al., 2010).

A diferencia de lo observado bajo condiciones controladas, donde la alta temperatura del suelo se ve reflejada en alta emisión de N_2O , los resultados de campo del presente trabajo muestran menor emisión de N_2O a medida que aumenta la temperatura del suelo. Esto posiblemente se deba a la relación negativa observada entre la temperatura del suelo y el EPSA (**Figura 3.8**). El secado del suelo causado por la elevada temperatura reduce el desarrollo de zonas anaeróbicas, a diferencia de lo que se observa en los experimentos con condiciones controladas en los cuales el contenido de agua del suelo es mantenido constante (Dobbie y Smith, 2001; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern, 2004). Cuando la humedad del suelo se encuentra por debajo de 60% de EPSA, la importancia relativa de la desnitrificación como fuente de emisión de N_2O disminuye mientras que la contribución relativa de la nitrificación aumenta (Linn y Doran, 1984). La emisión de N_2O a partir del proceso de nitrificación es generalmente más baja que la generada a partir del proceso de desnitrificación (Castaldi, 2000; Smith et al, 2003; Bateman y Baggs, 2005). Esto ofrece una posible explicación sobre porqué la emisión de N_2O en el Grupo III fue moderada, mientras que la emisión de N_2O en el grupo II fue alta. En el caso del grupo III, la influencia de la temperatura del suelo habría sido indirecta y mediada por el contenido de agua.

La relación entre la emisión de N_2O y la concentración de N-NO_3^- del suelo difirió entre los Grupos II y III, y entre cultivos dentro de cada grupo (**Figura 3.11**). Para el Grupo II, se observaron relaciones lineales cuando el suelo se encontró cubierto por el cultivo de maíz y por el residuo de soja, mientras que no se encontró relación cuando el suelo se encontró cubierto por el cultivo de soja (**Figura 3.11, A, B y C**). Para

el Grupo III, se observaron relaciones lineales entre la emisión de N_2O y la concentración de N-NO_3^- del suelo cuando el suelo se encontró cubierto por el cultivo de maíz o trigo y no se encontró relación cuando el suelo estuvo cubierto por el cultivo de soja (**Figura 3.11, D, E y F**). La emisión de N_2O en suelo cubierto con cultivo de maíz y trigo correspondientes al Grupo III fue menor que la observada para el Grupo II. Estos resultados pueden ser atribuidos a que la emisión de N_2O observada para el Grupo II se habría generado a partir del proceso de desnitrificación, mientras que la emisión de N_2O correspondiente al Grupo III habría sido generada principalmente por el proceso de nitrificación (Castaldi, 2000; Smith et al., 2003; Bateman y Baggs, 2005).

Es interesante observar que, independientemente del grupo de emisión, en el tratamiento con cultivo de soja no se observó relación entre la emisión de N_2O y el contenido de N-NO_3^- (**Figura 3.11 B y E**).Alguna variable no medida durante el presente trabajo pudo haber sido la responsable de la emisión de N_2O para este cultivo.

Los resultados obtenidos en la presente Tesis sobre la emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja requieren mayor aclaración a través de futuros estudios. Es probable que la inclusión de otras determinaciones, como por ejemplo la medición del C lábil del suelo, ayude a explicar el origen de la emisión de N_2O desde el suelo con este cultivo.

3.8 Conclusiones

Los resultados hallados no mostraron diferencias significativas en la emisión de N_2O causadas por la ubicación en el lote. Ambas ubicaciones difirieron en el tipo de estructura superficial con mayor proporción y espesor de las estructuras laminares y masivas y menor velocidad de secado del suelo en Cabecera. Sin embargo, la sola presencia de estructuras no favorables asociadas con la ubicación en el lote, no fue un factor desencadenante de la diferente emisión de N_2O . En lo que respecta al presente estudio, los resultados obtenidos nos llevan a rechazar la hipótesis.

Si bien las variables físicas medidas (Dap, tasa de infiltración y resistencia a la penetración) no presentaron diferencias significativas entre Cabecera y Centro de lote, se observó una tendencia a mayor Dap y resistencia a la penetración y menor tasa de infiltración en la cabecera de lote. Por lo tanto, en el futuro no deberían descartarse a estas variables como posibles reguladoras de la emisión de N_2O .

El principal hallazgo de este capítulo fue haber podido establecer un ordenamiento entre las principales variables que regulan la emisión de N_2O desde el suelo estudiado. La principal variable reguladora de la emisión de N_2O fue la temperatura del suelo, seguida por el porcentaje del EPSA y para algunos cultivos la concentración de N-NO_3^- del suelo. Estos resultados parecerían indicar que cada grupo de emisión de N_2O estuvo relacionado con la limitación de una variable diferente. Esto nos lleva a pensar no sólo en la limitación por una o más variables (teoría de la estequiometría ecológica) sino también en la existencia de una jerarquía entre las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O .

Los grupos de emisión de N_2O obtenidos a través del análisis de árbol de regresión podrían ser útiles para decidir la intensidad en la toma de muestras de N_2O desde el suelo a la largo del año, lo que permitiría el ahorro en tiempo y esfuerzo en el

trabajo de campo. A modo de ejemplo, podría pensarse en disminuir la frecuencia de muestreo cuando la temperatura del suelo se encuentre por debajo de los 14°C, dado que bajo esas condiciones la emisión de N₂O es probablemente baja o incluso insignificante. Temperaturas menores a 14 °C son fáciles de encontrar durante los meses de invierno en una región templada, como la Pampa Argentina. En este caso, el control periódico de temperatura del suelo mediante algún método sencillo como puede ser un sensor de temperatura, ahorraría esfuerzo de muestreo. Por otro lado, aumentar los esfuerzos de medición sería importante cuando el EPSA se encontrara por encima de 60% y la temperatura del suelo fuera mayor que 14 °C, como a menudo sucede durante el otoño y la primavera. Bajo estas condiciones, es recomendable realizar las mediciones de N₂O más frecuentemente, con el fin de capturar la mayor variabilidad ambiental. Estos resultados, podrían ser extrapolados a otras áreas que presenten similares condiciones de suelo, clima y manejo.

Capítulo 4.Aporte a la emisión de N₂O desde el suelo con cultivo de soja nodulante y no nodulante

Publicación derivada de este capítulo: Cosentino, V.R.N., Brutti, L.N., Civeira, G. y Taboada, M.A. 2015. Aporte de la fijación biológica de nitrógeno a las emisiones de N₂O desde el cultivo de soja. Ciencia del suelo. En prensa.

4.1 Introducción

En el Capítulo 3 de esta Tesis, en el cual se realizó un ensayo a campo en un suelo de Chivilcoy, provincia de Buenos Aires, se observaron valores de emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja en el estadio cercano a floración que no pudieron ser explicados por las variables medidas. La soja es el principal cultivo de la Argentina, con una superficie sembrada que supera las 18 millones de hectáreas y una producción de 48,8 millones de toneladas anuales para la campaña 2010-2011 (INDEC, 2014). Los cultivos leguminosos como la soja exudan volúmenes importantes de N desde sus raíces mediante el proceso de rizodeposición (Martens et al., 2006). Al mismo tiempo estos cultivos son capaces de fijar N atmosférico (N_2) a partir del proceso de FBN. Ambos procesos –la rizodeposición y la FBN– aumentan el contenido de N del suelo que queda disponible y podría ser liberado a la atmósfera como N_2O (Rochette et al., 2004; Snyder et al., 2009).

Durante el periodo de crecimiento de un cultivo leguminoso, el suelo próximo a sus raíces puede emitir N_2O a partir del N depositado por el proceso de rizodeposición y/o el de FBN (Jensen, 1996). La rizodeposición se define como la pérdida de material orgánico desde las raíces, lo cual incluye desde exudados radicales hasta fragmentos de raíz (Jensen, 1996). Por otro lado, la FBN es el proceso a partir del cual los microorganismos en simbiosis con las raíces toman el N_2 y lo transforman en NH_4^+ dentro del tejido de la planta. El proceso de FBN comienza aproximadamente 30 días después de la siembra de la soja, aumenta hasta alcanzar su máximo durante el periodo reproductivo y cae durante el llenado de grano (Zapata et al., 1987). Asimismo, el proceso de rizodeposición decae con el crecimiento de la planta (Gul y Whalen, 2013). Tanto la FBN como la rizodeposición ocurren simultáneamente y pueden estimular la emisión de N_2O desde la zona cercana a la raíz. Sey et al. (2010) observaron que el 78% de la emisión de N_2O durante el ciclo de vida del cultivo de soja, ocurre durante la etapa de crecimiento vegetativo.

En la actualidad aún se discute si los procesos de rizodeposición y de FBN aumentan o no la emisión de N_2O desde la rizosfera de los cultivos leguminosos (Rochette y Janzen, 2005; Jantalia et al., 2008; Jensen et al., 2012). La deposición de material orgánico estimula el crecimiento microbiano y la actividad en la rizosfera, además de regular la cantidad de N y de otros nutrientes (Jensen, 1996). En cultivos leguminosos, los compuestos liberados por la rizodeposición son la principal fuente de energía para los rizobios fijadores de N_2 (Hauggaard-Nielsen y Jensen, 2001). Durante el proceso de FBN, los rizobios son capaces de reducir el N_2 a NH_4^+ , dejándolo disponible para ser utilizado por la planta (Bogino et al., 2011). A nivel mundial entre 33 y 46 millones de toneladas de N_2 atmosférico son fijados cada año por las bacterias en simbiosis con cultivos leguminosos (Jensen et al., 2012).

Los países como la Argentina que no poseen mediciones locales propias de emisión de N_2O deben obtenerlos a partir de los valores *por defecto* generados por el IPCC. La utilización de estos valores *por defecto* es compleja y existe controversia acerca de su grado de verosimilitud (IPCC, 1996; 2001). Por otra parte, aun cuando en sus nuevas directrices revisadas el IPCC (2001, 2006) ha eliminado a la FBN como fuente de emisión de N_2O desde el suelo. La Unión Europea discrepa con este enfoque y

ha propuesto una metodología para recalcular la emisión de N_2O por cultivos leguminosos utilizados para bioenergía, dado que sostiene que pueden emitir más N_2O de lo establecido por IPCC a partir de rizodeposición (EuropeanCommission, 2013). Por esto, es altamente relevante evaluar la emisión de N_2O por el cultivo de soja desde la zona cercana a su raíz.

4.2 Hipótesis

La presencia de nódulos afecta positivamente la emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja.

4.3 Objetivo

El objetivo de este capítulo es evaluar qué proporción de la emisión de N_2O es emitido desde el suelo con cultivo de soja.

4.4 Materiales y Métodos

4.4.1 Área de estudio

Se trabajó en el campo experimental del INTA Castelar, provincia de Buenos Aires ($34^{\circ} 36' 49''$ S, $58^{\circ} 39' 31''$ O) en cultivos de soja sembrados en un suelo Argiudol Vértico de la Serie Hurlingham. El suelo de estudio se encuentra a una altura de 20 msnm, en posición de loma. Este suelo está compuesto por un horizonte A de 19 cm de profundidad, el cual presenta estructura en bloques subangulares, gruesos, débiles que se deshacen bajo leve presión en agregados granulares finos, porosos. En el horizonte A (que se extiende hasta los 19 cm de profundidad) la textura del suelo es franco arcillo limosa (30% arcilla, 49% de limo y 21% de arena) y presenta 2,29% de CO. Por debajo se encuentra el horizonte BA que se extiende hasta los 30 cm de profundidad. Luego se encuentra el horizonte Bt1 que se ubica entre los 30 y 60, seguido de un Bt2 entre los 60 y los 90 cm, un horizonte BC que se extiende desde los 90 hasta los 125cm y finalmente un horizonte Ck entre los 125 y los 145cm (Castiglioni et al., 2005).

4.4.2 Diseño experimental

El ensayo se desarrolló con un diseño completamente aleatorizado con dos variedades de soja genéticamente modificadas (tratamientos): variedad nodulante (LAE 0176403) y variedad no nodulante (LAE 0176402) y tres repeticiones por tratamiento. Cada parcela (repetición) presentó una superficie de 5 m^2 . La siembra se realizó el 27 de octubre de 2011, época de siembra de la soja de primera en la región, con una densidad aproximada de 40 plantas m^{-2} . Se regó al momento de la siembra para homogeneizar la emergencia de las plántulas. En los casos en que fue necesario, el cultivo fue regado y

se le realizaron las prácticas de manejo necesarias para evitar la pérdida total o parcial del cultivo por ataque de hongos e insectos. Los muestreos se realizaron cada 21 días aproximadamente. En cada uno de los muestreos se midió la emisión de N_2O , la concentración de nitrato, el EPSA, la temperatura del suelo y la del aire.

Previo al comienzo del ensayo cuatro plantas por tratamiento fueron colectadas al azar para determinar la presencia/ausencia de nódulos en sus raíces. En aquellos casos en que se observó la presencia de nódulos, su totalidad fue diseccionada para corroborar su funcionalidad como fijadores biológicos de nitrógeno. Los nódulos funcionales presentaron coloración rosada, mientras que los no funcionales presentaron coloración blanca (Somasegaran y Hoben, 1985).

A fin de evitar el aporte de la descomposición aérea del cultivo a la emisión de N_2O , el ensayo fue finalizado antes del periodo de madurez fisiológica (R_7) según la escala de Fehr y Caviness, (1977). Esto fue así porque el periodo de madurez fisiológica suele estar acompañado de la caída de las hojas.

4.4.3 Determinación de la emisión de N_2O

Las muestras de N_2O fueron colectadas con las mismas cámaras que se utilizaron en los ensayos correspondientes a los Capítulos 2 y 3 de esta Tesis. La toma de muestras del N_2O se realizó entre las 9 y las 12 a.m. Las cámaras fueron ubicadas en forma perpendicular al surco de los cultivos, de manera de contener surco y entre surco de cada cultivo.

La colecta de las muestras, el análisis cromatográfico y el cálculo de la emisión de N_2O se realizaron siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 2 de esta tesis.

4.4.4 Otras determinaciones

Conjuntamente con la toma de muestras del N_2O , se midió la temperatura del aire a la sombra sobre la superficie del suelo y la temperatura del suelo cercano a las cámaras a los 0,10 m de profundidad. Para ello se colocaron los termómetros en la zona que se encontraba entre los dos tratamientos. Después del muestreo del N_2O , se colectaron muestras de suelo al costado de las cámaras para el análisis en el laboratorio. En el laboratorio se determinó la concentración de $N-NO_3^-$, la Dap, el CHg y se calculó la PT y el porcentaje del EPSA. Las determinaciones se realizaron con los métodos descriptos en el Capítulo 2 de esta tesis.

Se realizó un muestreo de suelo en una zona cercana al ensayo (a 50 metros aproximadamente) que no se encontraba compactada, con el fin de comparar los valores de Dap y determinar si el suelo de estudio se encontraba o no compactado.

4.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de regresión para verificar la linealidad de la emisión de N_2O desde el suelo durante el tiempo de muestreo del N_2O , según se describió en el

Capítulo 2 de esta tesis. También se realizaron regresiones lineales de la emisión de N_2O en función del contenido de nitrato del suelo y del EPSA, y se analizaron las diferencias entre medias por medio de sus varianzas (ANOVA). Todos los análisis se realizaron mediante la utilización del programa estadístico Infostat (Infostat, 2010).

4.6 Resultados

Las **Fotos 4.1, 4.2 y 4.3** ilustran el desarrollo de las plántulas de soja nodulantes y las no nodulantes durante las primaras etapas del ensayo. La **Foto 4.1**, tomada antes de la primera fecha de muestreo, muestra la presencia de nódulos en las plantas correspondientes al tratamiento nodulante. Asimismo, se verificó la ausencia de nodulos en las plantas correspondientes al tratamiento no nodulante. En la **Foto 4.2** se observa que los tratamientos no presentaron diferencias visibles en su tamaño y estadio hasta la segunda fecha de muestreo inclusive. No obstante, a partir de la tercera fecha comenzaron a visualizarse diferencias entre los tratamientos, siendo las plantas correspondientes al tratamiento nodulante las que presentaron mayor tamaño y una coloración verde más intensa (**Foto 4.3**).



Foto 4.1. Fotografía de una plántula de soja nodulante 27 días después de la siembra (A), acercamiento sobre la zona de la raíz mostrando la presencia de los primeros nódulos (B).

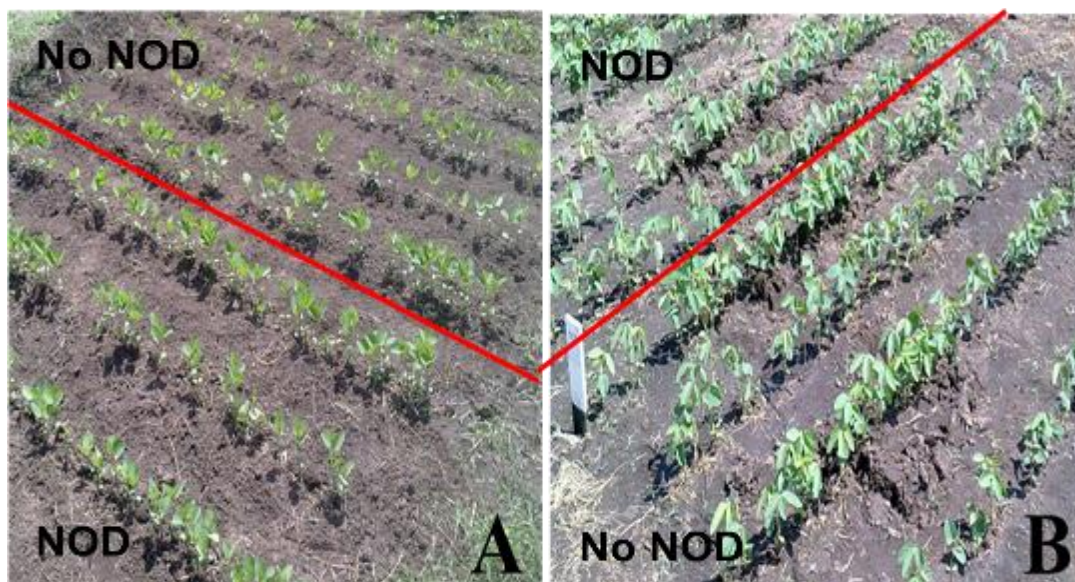


Foto 4.2. Fotografía de las plántulas nodulantes y de las no nodulantes correspondientes a la primera (A, estadio V_1) y segunda fecha de muestreo (B, estadio V_{2-3}) según la escala de Fehr y Caviness (1977). La línea roja muestra la división entre los tratamientos.

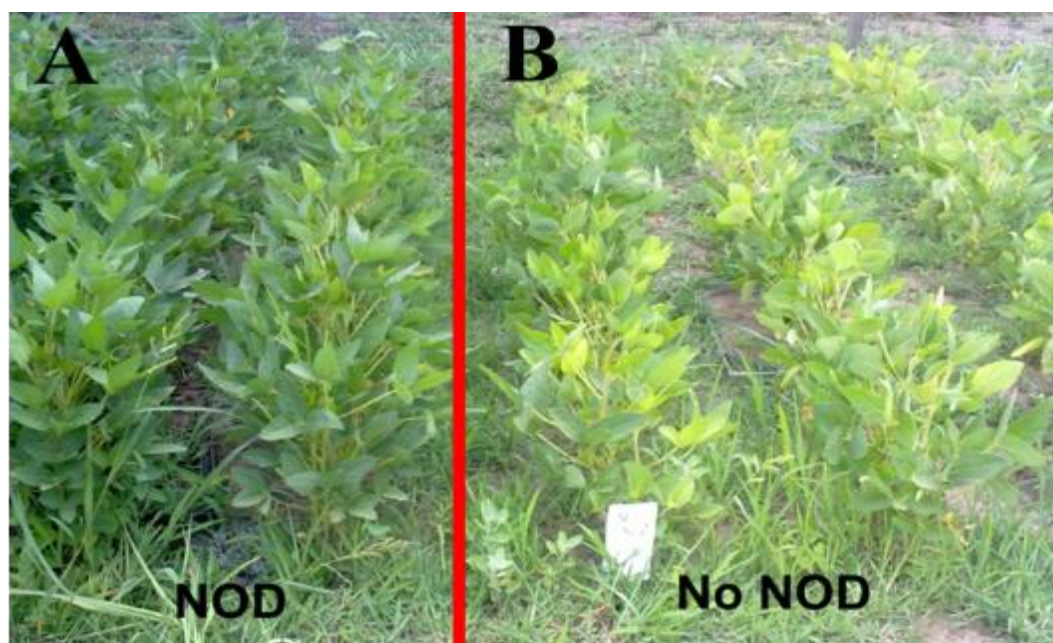


Foto 4.3. A) Fotografía de las planta nodulantes (NOD) y B) de las no nodulantes (No NOD) correspondientes a la tercera fecha de muestreo. La línea roja muestras la división entre los tratamientos.

Los valores de Dap medidos al comienzo del ensayo no difirieron significativamente ($p = 0,07$) entre los tratamientos, con valores de $1,41 \text{ g cm}^{-3}$ en suelos con cultivo de soja nodulante y de $1,45 \text{ g cm}^{-3}$ en no nodulante. Ambos valores presentaron diferencias significativas ($p < 0,001$) respecto del valor observado un el

suelo cercano al ensayo no compactado de $1,22 \text{ g m}^{-3}$. Si bien el EPSA fue algo mayor en el suelo con soja no nodulante que en el suelo con soja nodulante (**Figura 4.1A**), las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas. El EPSA siempre superó el 40 por ciento y la temperatura del suelo, los 22°C (**Figura 4.1**). La concentración de N-NO_3^- en el suelo, siempre fue mayor que $5 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ de suelo. La altura promedio final para el cultivo de soja nodulante fue 0,8 m, llegando a cubrir por completo el entresurco. En el caso del cultivo de soja no nodulante, la altura promedio fue de 0,7 m y cubrió gran parte del entresurco.

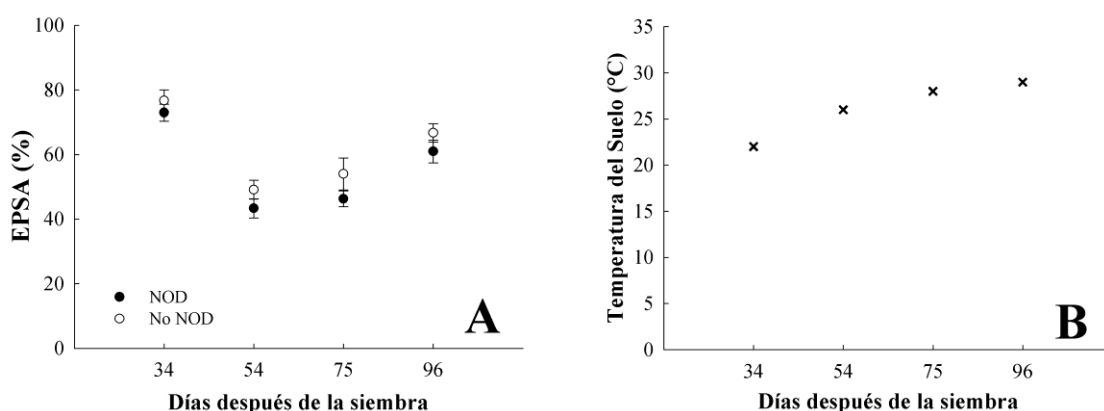


Figura 4.1. A) Espacio poroso saturado de agua en porcentaje (EPSA%) y B) temperatura del suelo en función del tiempo en días después de la siembra. En A) las líneas verticales representan el error estándar.

En ambos tratamientos se observó una disminución en la concentración de N-NO_3^- del suelo a lo largo del ensayo. Para las primeras 2 fechas de muestreo (36 y 54 días después de la siembra) la concentración de N-NO_3^- no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. En tercera fecha de muestreo (75 días después de la siembra) la concentración de N-NO_3^- en el suelo difirió entre los tratamientos, siendo menor en el suelo con cultivo de soja nodulante respecto al suelo con el cultivo de soja no nodulantes. Finalmente, para la cuarta fecha de muestreo (96 días después de la siembra) ambas concentraciones se igualaron nuevamente. Siendo la concentración en el tratamiento de cultivo de soja nodulante igual a la estimada da en el muestreo anterior, mientras que en el suelo con el cultivo no nodulante la concentración de N-NO_3^- continuó disminuyendo (**Figura 4.2**).

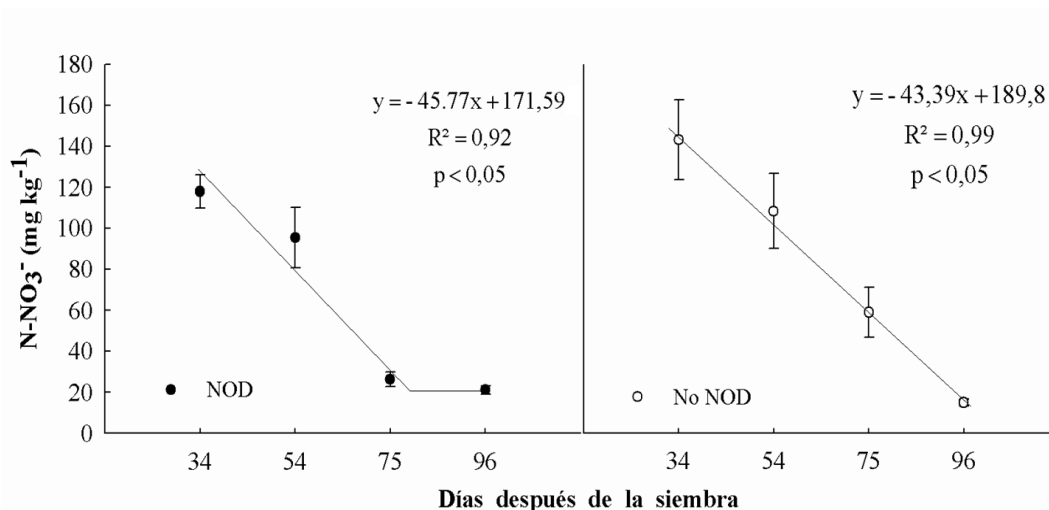


Figura 4.2. Cambios en la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO_3^-) del suelo en función del tiempo en días después de la siembra para los tratamientos con soja nodulante (NOD) y no nodulante (no NOD). Se ajustó un modelo “lineal-meseta” en el tratamiento NOD, en el cual la recta de ajuste fue construida utilizando los datos de las tres primeras fechas de muestreo, y un modelo lineal en el tratamiento no NOD utilizando los datos de las cuatro fechas de muestreo. Las pendientes de las rectas que ajustaron los datos de los tratamientos no presentan diferencias significativas entre sí ($p = 0,87$). Las líneas verticales representan el error estándar.

La emisión de N_2O siempre fue baja y cercana a cero. Sólo se observaron diferencias significativas en la emisión de N_2O entre los tratamientos en la última fecha de muestreo (96 días después de la siembra), con valores de emisión de N_2O mayores desde el suelo con plantas no nodulantes (**Figura 4.3**).

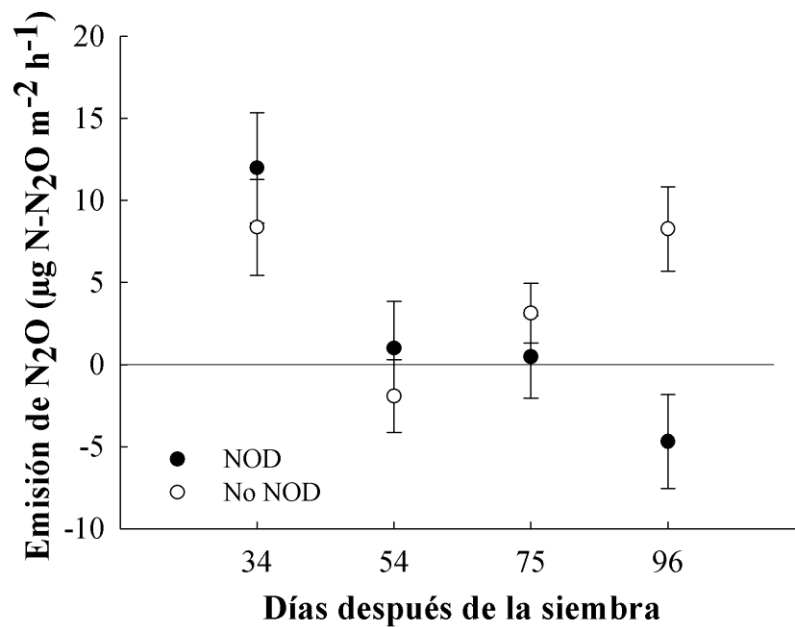


Figura 4.3. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del tiempo en días después de la siembra. Las líneas verticales representan el error estándar. La línea horizontal marca el cero en la emisión de N_2O .

La emisión de N_2O desde el cultivo nodulante presentó una relación positiva y significativa ($p < 0,05$) con la concentración de N-NO_3^- del suelo (**Figura 4.4**) y también se relacionó positivamente con el EPSA (**Figura 4.5**). La emisión de N_2O desde el suelo con cultivo no nodulante sólo se relacionó positivamente con el EPSA, con un elevado coeficiente de determinación (**Figura 4.5**).

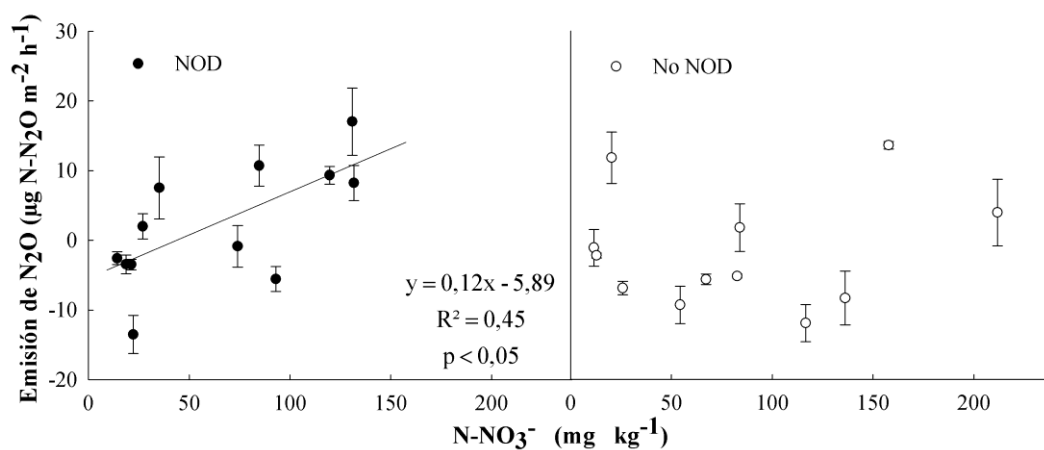


Figura 4.4. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función de la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO_3^-). NOD corresponde a las plantas nodulantes y No NOD a las plantas no nodulantes. Las líneas verticales representan el error estándar.

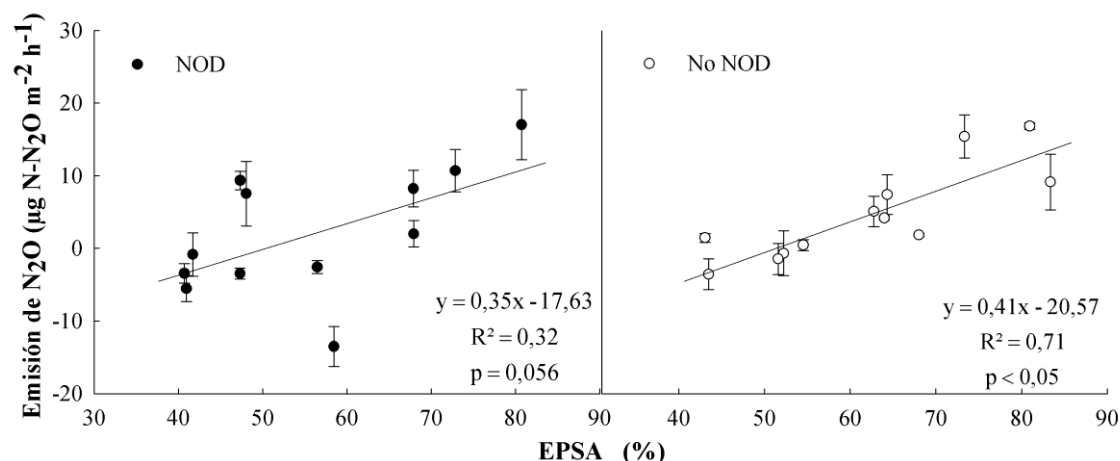


Figura 4.5. Emisión de óxido nitroso (N₂O) en función del espacio poroso saturado de agua (EPSA) expresado en porcentaje. NOD corresponde a las plantas nodulantes y No NOD a las plantas no nodulantes. Las líneas verticales representan el error estándar.

4.7 Discusión

Bajo las condiciones en que se desarrolló este ensayo, con concentraciones de N-NO₃⁻ superiores a 5mg kg⁻¹ de suelo, temperaturas mayores a 22 °C y porcentaje de EPSA > al 40%, no debieran haberse producido limitaciones a los procesos de formación de N₂O (Keeney et al., 1979; Dobbie et al., 1999; Cosentino et al., 2013). Sin embargo, los valores de emisión de N₂O observados fueron bajos, e incluso negativos (absorción de N₂O por el suelo). La baja tasa de emisión de N₂O pudo haberse debido al alto nivel de compactación del suelo (con un valor promedio de 1,43 g cm⁻³), la cual es significativamente ($p < 0,05$) superior a la observada en suelos cercanos no compactados (1,20 g cm⁻³).

La compactación es la forma física de degradación que cambia la estructura del suelo (Nawaz et al., 2013). Esto lleva a la modificación de las propiedades físicas del suelo y provoca la reducción en la tasa de infiltración del agua y en la permeabilidad al aire, lo cual también actúa sobre las propiedades químicas del mismo. La compactación del suelo causa decrecimiento en la difusión de O₂ y puede llevar a condiciones de anoxia en los suelos compactados, dado que el consumo de O₂ es más rápido que su difusión desde la atmósfera (Schnurr-Pützet al., 2006). El incremento en la proporción de sitios anaeróbicos a medida que se incrementa el EPSA, resulta en la reducción de la actividad microbiana aeróbica y el aumento de la anaeróbica (Aulakh et al., 1991). La disminución del O₂ lleva al incremento del proceso de desnitrificación, el cual puede ser acompañado por el aumento en la emisión N₂O (Berisso et al., 2012). Yamulki y Jarvis (2002) realizaron un ensayo en invernáculo, en el cual midieron la emisión de N₂O durante un periodo de 3 semanas utilizando cámaras cerradas. Estos autores observaron que la emisión de N₂O desde el suelo compactado fue 3,5 veces mayor a la observada en el suelo sin compactar.

No obstante, la compactación del suelo genera cambios en la proporción de los distintos tamaños de poros, con disminución de la macro porosidad (Hill et al., 1985). Esta pérdida de macro poros o poros estructurales, afecta la capacidad de difusión de un gas dentro del suelo. La difusión del gas dentro de la matriz del suelo está relacionada con el factor de impedancia, el cual depende del tamaño, la forma y la orientación de los poros del suelo (Taylor y Brar, 1991; Fen et al., 2009). El flujo de gas entre el suelo y la atmósfera es el resultado de tres procesos básicos: la producción, el consumo y el transporte (Conrad, 1996). Por lo tanto, podría pensarse que la reducción de poros estructurales redujo la velocidad a la cual el N_2O se movió desde el suelo hacia la atmósfera. Puede especularse que la acumulación de N_2O en la matriz del suelo lo dejó disponible para ser reducido a N_2 por la N_2O reductasa (Robertson y Groffman, 2007), observándose de este modo valores de emisión de N_2O menores que los esperados.

Soaney Van Ouwerkerk (1995) observaron que en suelos compactados hay un decrecimiento del transporte de N_2O hacia la atmosfera que es acompañado por un incremento del N_2O que es reducido a N_2 . La velocidad a la cual ocurre este proceso depende de las condiciones del suelo. El suelo en el cual fue realizado el ensayo correspondiente a esta Tesis presentó valores de Dap, significativamente superiores a los esperados para su textura, indicando por lo tanto compactación. Sin embargo, dado que la Dap no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, no existe motivo alguno para pensar que la compactación afectó diferencialmente los resultados.

Si bien los valores de emisión de N_2O fueron bajos durante todo el ensayo, presentaron una relación positiva con el EPSA, con valores de $R^2 = 0,70$ y $p < 0,05$ para el cultivo de soja nodulante y de $R^2 = 0,32$ y $p = 0,056$ para no nodulante. Estos resultados concuerdan con lo observado por Shelton et al. (2000) y Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern (2004) para ensayos realizados en invernáculo; y con Almaraz et al. (2009), quienes observaron una relación positiva entre la emisión de N_2O y la humedad del suelo bajo condiciones de campo. No obstante, se oponen a los encontrados por Jantalia et al. (2008) en un ensayo realizado a campo en el cual no se observó relación entre el EPSA y la emisión de N_2O .

En el tratamiento con soja nodulante, la concentración de $N-NO_3^-$ del suelo también explicó parte de la emisión de N_2O ($R^2 = 0.46$ y $p < 0.05$). Esta relación positiva entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo también fue descrita por McSwiney y Robertson (2005). Estos autores observaron una relación positiva entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ en un ensayo a campo fertilizado. Sin embargo, los resultados hallados en esta tesis se oponen a lo observado por Liu et al. (2011) en un ensayo de maíz fertilizado realizado a campo, en el cual no se observó relación entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo. La falta de relación entre la emisión y el contenido de nitrato, posiblemente se debió a que la aplicación de $N-NO_3^-$ al cultivo de maíz siempre fue realizada fuera de la época de lluvia por lo que el suelo presentó baja humedad. Es posible que en este caso la variable humedad del suelo este limitando el proceso de formación del N_2O .

Cuando el EPSA del suelo supera el 60%, comienza a cobrar importancia relativa el proceso la desnitrificación en detrimento de la nitrificación como fuente de emisión de N_2O (Linn y Doran, 1984) hasta alcanzar un máximo cuando el EPSA supera el valor crítico de 65% (Clayton et al., 1997). Por este motivo, cuando el EPSA se encuentra cercano al 65%, pequeñas diferencias en el contenido hídrico del suelo

pueden derivar en importantes diferencias en la emisión de N_2O (Bateman y Bagg, 2005). En la última fecha de muestreo (96 días después de la siembra), el ensayo aquí realizado presentó un porcentaje de EPSA cercano a ese valor crítico. Por lo tanto, es posible que, si bien no se observaron diferencias significativas de EPSA entre los tratamientos, el mayor porcentaje del EPSA en el suelo con cultivo no nodulante haya llevado a que pequeños incrementos en la humedad, se tradujeran en valores de emisión de N_2O bajos pero significativamente mayores respecto al tratamiento con cultivo nodulante (**Figura 4.3**). Una respuesta aún más acentuada fue encontrada por Bateman y Bagg (2005), quienes observaron un aumento significativo (10 veces mayor) de la emisión de N_2O cuando el EPSA del suelo aumento del 60 al 70%, este aumento en los valores de emisión de N_2O fue atribuido al proceso de desnitrificación.

Con excepción de la última fecha de muestreo, los valores observados de emisión de N_2O en el presente ensayo no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Es decir que con soja nodulante no hubo mayor emisión de N_2O desde la rizosfera que con la no nodulante. Estos resultados con valores de emisión de N_2O bajos durante todo el periodo de crecimiento del cultivo de soja difieren de lo observado en el Capítulo 3 de esta tesis, en el cual se observaron elevados valores de emisión de N_2O en elestadio cercano a la floración.

Las plantas de soja no nodulantes del presente ensayo se comportan, respecto al N, como una especie no leguminosa. Es por esto que es factible la comparación de los resultados hallados con los observados por Ghosh et al. (2002), quienes observaron mayor emisión de N_2O desde cultivos leguminosos en relación a cultivos no leguminosos. Una posible explicación sobre la mayor emisión de N_2O desde los cultivos leguminosos, es dada por los cambios en la composición de especies y la alta diversidad de microorganismos en su rizosfera (Lupwayi y Kennedy 2007). Además, los exudados ricos en N liberados hacia la rizosfera desde los cultivos leguminosos estimulan el crecimiento y la actividad microbiana, y promueven el consumo de O_2 . Esto genera micrositios de anaerobiosis temporal en el suelo que favorecen el proceso de desnitrificación (Siddique et al., 2012). Sin embargo, esto no fue observado en el presente ensayo.

En el presente ensayo la emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja nodulante y no nodulante no difirió significativamente las primeras tres fechas de muestreo. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Jantalia et al. (2008), quienes realizaron un ensayo en el cual se monitorearon dos sistemas diferentes de doble cultivo a lo largo de dos años consecutivos. Estos autores observaron que la emisión de N_2O proveniente del doble cultivo soja-arveja no fue significativamente diferente de la proveniente de la secuencia maíz-trigo, la cual recibió entre 45 y 60 kg N ha^{-1} como fertilizante. Finalmente si cotejamos los resultados de este ensayo con lo observado en un ensayo realizado en Brasil (Alves comunicación personal citado por Jensen et al., 2012), en el cual se comparó soja nodulante y no nodulante, podemos mencionar que no se observó diferencia en la emisión de N_2O desde los diferentes cultivos.

Yang y Cai (2005) realizaron un ensayo en invernáculo para evaluar la emisión de N_2O durante el ciclo del cultivo de soja y mostraron que casi la totalidad (más del 90%) de la emisión de N_2O producida durante la estación de crecimiento ocurre entre el llenado de grano y la madurez fisiológica del cultivo, por lo que proponen que esta emisión de N_2O es posiblemente proveniente del N liberado por los nódulos y las raíces en descomposición y no de la FBN. Un comportamiento similar fue informado por Ciampitti et al. (2008) con un valor del 70% de la emisión de N_2O antes que el cultivo alcance la madurez fisiológica. Finalmente, Rochette y Janzen (2005) concluyeron que la FBN por sí misma no es necesariamente una fuente importante de N_2O a partir de suelos con cultivos leguminosos.

4.8 Conclusiones

En el presente Capítulo, en que se analizó comparativamente la emisión de N_2O desde cultivos de soja nodulantes y no nodulantes, la soja nodulante no emitió mayor cantidad de N_2O como había sido hipotetizado. Ello indica que –al menos en este estudio- la presencia de nódulos fijadores no afectó la cantidad de N_2O emitida durante el crecimiento del cultivo de soja. A partir de estos resultados se rechaza la hipótesis de trabajo.

Los resultados de este ensayo mostraron diferente efecto de las variables reguladoras de la emisión de N_2O en plantas nodulantes y no nodulantes. En el caso de las plantas nodulantes la emisión de N_2O estuvo explicada por las variables $N-NO_3$ y EPSA, mientras que en caso de las plantas no nodulantes la emisión fue explicada en su mayoría por el EPSA.

Capítulo 5. Influencia de la calidad del rastrojo y el grado de contacto con el suelo sobre la emisión de N₂O

5.1 Introducción

La tasa de descomposición del residuo en el suelo está regulada por la calidad (relación C/N) del residuo en descomposición, el contacto suelo-residuo; y los factores ambientales, incluyendo la temperatura, el contenido de agua y la disponibilidad de nutrientes (Parr y Papendick, 1978; Varela et al., 2014). El residuo con menor relación C/N proporciona un entorno menos limitado en N para que los microorganismos crezcan y se reproduzcan, que aquél con mayor relación C/N. Esto se debe a que el residuo con baja relación C/N se descompone y luego sus productos se mineralizan más rápidamente, lo cual aumenta la concentración de N mineral del suelo (Gul y Whalen, 2013). En general, cuando el porcentaje de N del rastrojo es menor que el 2% se produce principalmente inmovilización neta del N mineral del suelo por los microorganismos (Seneviratne, 2000; Trinsoutrot et al., 2000; Jensen et al., 2005).

La ubicación y el grado de contacto entre el suelo y el residuo también afectan la tasa de descomposición. El contacto más estrecho entre el residuo y la matriz del suelo, aumenta la tasa de descomposición del residuo, es decir que la tasa de descomposición es más rápida para residuos incorporados que para aquéllos que se encuentran sobre la superficie del suelo (Curtin y Francis, 2008; Varela et al., 2014). En contraposición a lo anterior, el rastrojo sobre la superficie del suelo actúa como aislante, lo cual disminuye la evaporación y contribuye a mantener la humedad del suelo generando sitios más apropiados para la actividad microbiana (Christensen, 1986).

La producción de N_2O desde el suelo es generada por los procesos microbianos de nitrificación y de desnitrificación. Estos procesos se encuentran regulados por la disponibilidad de N (principalmente NO_3^- y NH_4^+) y el contenido de agua en el suelo entre otros factores (Steenwerth y Belina, 2008; Cosentino et al., 2013). La disponibilidad de N en el suelo depende de la tasa de descomposición del residuo. Por esto, el contacto suelo-residuo y la calidad (relación C/N) del residuo, afectan el momento y la magnitud de la emisión de N_2O (Aulakh et al., 1991; Vinten et al., 1998).

En general, cuando un residuo con alta relación C/N se descompone, se produce inicialmente inmovilización microbiana neta del N liberado, lo cual conduce a reducir la emisión de N_2O (Shan y Yan, 2013). Esto se debe a que cuando la concentración de N mineral (NH_4^+ y NO_3^-) en el suelo es alta, aumenta la posibilidad de que sea utilizado por los microorganismos nitrificadores y desnitrificadores, y se produzca y luego emita N_2O . La ubicación del residuo también puede afectar la emisión de N_2O desde el suelo, lo cual se asocia a la mayor la tasa de descomposición del residuo enterrado en relación con el residuo que es dejado sobre la superficie del suelo.

La emisión de N_2O proveniente del rastrojo ha sido mayormente estudiada en ensayos realizados a campo (Kaiser et al., 1998; Baggs et al., 2003). También se conocen algunos trabajos realizados bajo condiciones controladas o semi-controladas con

cultivos de caña de azúcar, maíz, sorgo, algodón, arroz y lechuga, entre otros (Baggs et al., 2003; Huang et al., 2004; Muhammad et al., 2011). Resulta interesante estudiar en ensayos semi-controlados cómo la dinámica en la descomposición de los residuos de cultivos importantes de nuestro país, como soja y maíz, influencia la emisión de N_2O desde el suelo.

5.2 Hipótesis

Los picos de emisión de N_2O son más tempranos y más elevados:

- a) en el suelo con residuo de soja (baja relación C/N) en comparación a suelo con residuo de maíz (alta relación C/N) y
- b) en el suelo con residuo incorporado (alto contacto residuo-suelo) que en suelo con el residuo mantenido en la superficie (bajo contacto residuo-suelo).

5.3 Objetivos

- A) Evaluar el efecto de residuos con diferente la relación C/N sobre la emisión de N_2O desde el suelo;
- B) Evaluar el efecto del grado de contacto entre el residuo y el suelo sobre la emisión de N_2O desde el suelo.

5.4 Materiales y Métodos

5.4.1 Diseño experimental

Se realizó un ensayo destructivo en invernáculo a partir de un diseño completamente aleatorizado (DCA) con un arreglo factorial de tres factores. Factor A: tiempo (1 10, 30, 90 y 150 días); factor B: rastrojo (rastrojo de maíz, rastrojo de soja, sin rastrojo) y factor C: ubicación (*incorporado* y *en superficie*), con cuatro repeticiones. En cada maceta de aproximadamente 1 litro de capacidad se colocó 1,1 kg de suelo obtenido del horizonte superficial (0-20 cm) del campo donde se realizaron los ensayos correspondientes a los Capítulos 2 y 3 de esta Tesis (**Figura 5.1**; Argiudol Típico, Familia Franco Fina de la Serie O'Higgins, INTA, 2014). Antes de la colocación en las macetas, el suelo fue secado al aire, tamizado (con tamiz de 2 mm de apertura de malla) y homogeneizado.

Junto con el suelo, una cantidad y proporción de rastrojo (tallo, hoja y vaina) representativa del encontrado en el campo fue colocado en cada una de las macetas. Este procedimiento se consideró adecuado a los fines del objetivo a estudiar, que es la contribución de distintas calidades y ubicaciones de residuos de cultivos sobre la emisión de N₂O desde el suelo. Esto diferencia a este tipo de ensayo de los clásicos que estudian la tasa de descomposición de residuos de cultivos, en los cuales se parte de cantidades iguales de residuos (ej. Semmartin et al., 2008; Austin et al., 2009).

Para el tratamiento con rastrojo de maíz, ya sea *en superficie* o *incorporado*, se colocaron 8,04 g de rastrojo por maceta. Esta cantidad de rastrojo de maíz corresponde a un rendimiento de 9000 kg grano ha⁻¹, representativo del rendimiento promedio informado en el campo muestreado. Para el tratamiento con rastrojo de soja, ya sea *en superficie* o *incorporado*, se colocaron 5,8 g de rastrojo por maceta, correspondiente a un rendimiento de 3500 kg grano ha⁻¹, también representativo del rendimiento promedio del campo. Antes de la colocación en las macetas, el rastrojo fue secado a estufa a 60°C durante 48 h, luego molido y tamizado (con tamiz de 1 mm de apertura de malla), y finalmente homogeneizado. Para el tratamiento de rastrojo *incorporado*, la totalidad del suelo y del rastrojo fueron mezclados antes de su colocación en cada una de las macetas.

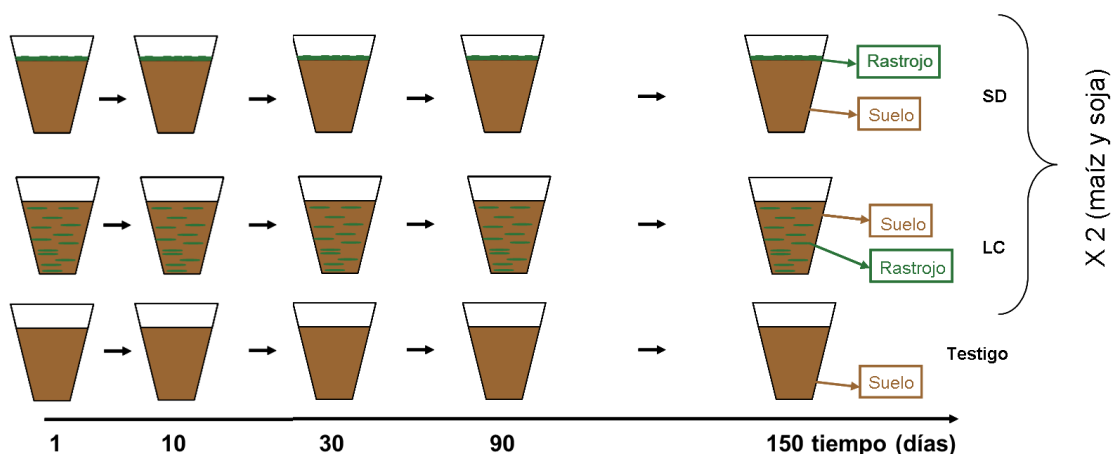


Figura 5.1. Diseño esquemático del ensayo. Para cada una de las macetas el color marrón representa el suelo, mientras que el verde representa el rastrojo *en superficie* (sobre el suelo) o *incorporado* (mezclado con el suelo).

El suministro de agua se realizó por capilaridad. Para ello, se colocó una esponja en la parte inferior de cada una de las macetas. La esponja se encontraba dentro de un recipiente con agua y sumergida hasta la mitad de su altura. Por esto, el ingreso del agua al perfil del suelo se produjo en forma ascendente por capilaridad. De esta forma, se intentó simular lo que sucede a campo, con diferente demanda por evaporación desde la superficie cuando el suelo se encuentra con o sin cobertura de residuos. De cualquier manera, se procuró mantener las macetas con un valor mínimo de 40% del EPSA para garantizarla emisión de N_2O (Capítulo 3 de esta tesis y Alvarez et al., 2012).

5.4.2 Determinación de la emisión de N_2O

El N_2O fue colectado utilizando cámaras cerradas no ventiladas, similares a las utilizadas para los muestreos a campo (Capítulos 2 y 3 de esta Tesis). En este ensayo se utilizaron cámaras de 0,13 m de altura. La base de la cámara fue la maceta con su correspondiente tratamiento, mientras que la parte superior (cámara plástica) fue otra maceta exactamente igual colocada sobre la maceta con el tratamiento. Ambas macetas permanecieron unidas y selladas (por un sistema de encastre a presión) durante el tiempo que duró la toma de las muestras de N_2O (**Figura 5.2**). La maceta que actuó como cámara se colocó al momento de la toma del N_2O y fue removida una vez terminada la colecta. Las muestras de N_2O fueron extraídas en el horario de la mañana, momento del día más representativo de la emisión de N_2O media diaria según los resultados obtenidos en el ensayo realizado en el Capítulo 2 de esta Tesis.

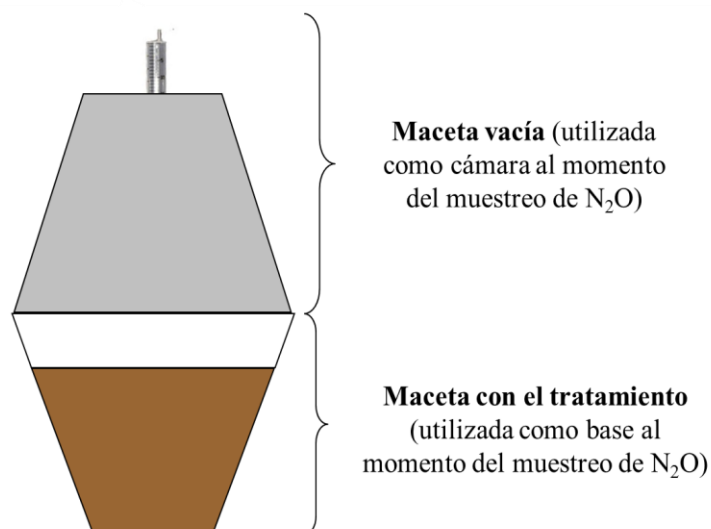


Figura 5.2. Esquema de la cámara colectora de N₂O. La base de la cámara fue la maceta con su correspondiente tratamiento, mientras que la parte superior (cámara plástica) fue otra maceta exactamente igual colocada sobre la maceta con el tratamiento, ambas macetas permanecieron unidas y selladas (por un sistema de encastre a presión) durante el tiempo que duró la toma de las muestras de N₂O.

La toma y el análisis de las muestras del N₂O fueron realizados en base a la metodología descrita en el Capítulo 2 de esta Tesis. Sin embargo, debido al menor volumen de las cámaras utilizadas en el presente ensayo, el volumen de aire extraído fue menor. Por esto, las muestras de aire extraídas desde el interior de las cámaras fueron inyectadas en viales de 10 mL. El N₂O colectado fue determinado en un cromatógrafo de gases (GC 6890 Network Agilent Technologies), el mismo que se utilizó a lo largo de toda la Tesis. Como el volumen de las cámaras fue diferente al de las utilizadas para los ensayos a campo, estos cambios debieron ser tenidos en cuenta al momento de realizar el cálculo de emisión de N₂O.

La emisión de N₂O (f) se calculó como:

$$f = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{V}{A} \times \frac{m}{V_m} \quad (1)$$

donde $\Delta C/\Delta t$ es el cambio en la concentración de N₂O dentro la cámara durante el tiempo de incubación Δt , V es el volumen de la cámara (0,998 dm³), A es el área de suelo cubierta por la cámara (0,095 m²), m es el peso molecular de N₂O y V_m es el volumen molar N₂O.

5.4.4 Otras determinaciones

Para evaluar la descomposición del residuo, en cada fecha de muestreo se recuperó el rastrojo remanente (no descompuesto) de cada una de las macetas mediante el lavado del suelo. El rastrojo recuperado fue separado del suelo con la utilización de un tamiz de 0,5 mm de apertura de malla. Finalmente, el rastrojo recuperado fue secado en estufa a 60°C durante 48 h y pesado. Para la determinación del rastrojo remanente en el tratamiento *rastrojo en superficie*, se retiró la totalidad del rastrojo antes del muestreo del suelo, luego se secó y se pesó.

En el caso del tratamiento *rastrojo incorporado*, se pesó la totalidad del suelo que tenía el rastrojo incorporado de cada una de las macetas. Luego se obtuvo una muestra más pequeña de suelo (de aproximadamente 900 gramos) de la cual se recuperó el rastrojo remanente mediante lavado (tamiz de 0,5 mm de apertura de malla). El rastrojo recuperado se secó y pesó, y finalmente se lo relacionó con la cantidad de rastrojo total en la maceta, mediante un cálculo de regla de tres simple. Esto se realizó para cada una de las macetas y fechas de muestreo.

Conjuntamente con la toma del N₂O, se midió la temperatura del suelo a 10 cm de profundidad dentro de una de las macetas y la temperatura del aire sobre la superficie de una de las macetas. Después del muestreo del N₂O, se extrajeron muestras de suelo desde el interior de las macetas y se analizaron en el laboratorio. Allí, se les determinó la concentración de N-NO₃⁻, el CH₄ y la Dap. Estas determinaciones se realizaron siguiendo las mismas metodologías descritas en el Capítulo 2 de esta tesis. A partir de estos valores se calculó la porosidad total y el EPSA. Los contenidos de C y de N se determinaron por el método de combustión seca utilizando un analizador elemental automático (LECO CN Analyzer St. Joseph, Michigan) para cada uno de los rastrojos utilizados, y se calculó su relación C/N.

Con el fin de comparar cómo la diferente calidad y ubicación del rastrojo afecta la emisión de N₂O, se comparó la emisión total acumulada (como área bajo la curva) entre los diferentes tratamientos. Para ello, se unieron entre sí los valores de emisión de N₂O media de cada fecha de muestreo y se calculó el área relativa de emisión de N₂O acumulada para cada uno de los tratamientos. Para calcular el área relativa de emisión de N₂O acumulada se le asignó un valor del 100% al tratamiento en el cual se observó el mayor valor de emisión acumulado (mayor área bajo la curva) y se relativizó resto de los tratamientos a este valor de emisión de N₂O máximo.

5.5 Análisis estadístico

La tasa de descomposición de los residuos, tanto de soja como de maíz se analizó mediante el ajuste a un modelo de decaimiento exponencial de primer orden:

$$Y_t = a + b e^{(-kt)}$$

Donde Y_t (g) es la biomasa de rastrojo en el tiempo t (días), a (g) es la biomasa que no se descompone y permanece constante en el período de tiempo estudiado, b (g) es la

biomasa que se descompone, k (día^{-1}) es una constante denominada tasa relativa de descomposición y t es el tiempo (días). De acuerdo a este modelo, la suma de los parámetros a y b es la biomasa inicial (g). El análisis estadístico de los resultados se realizó comparando los parámetros a , b y k de los modelos ajustados para cada una de las especies y las ubicaciones mediante un análisis de la varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante test de diferencias mínimas significativas LSD ($\alpha=0,05$).

Para la estimación de la emisión de N_2O acumulada total, se unieron entre si los valores de emisión de N_2O media de cada fecha de muestreo. Luego, se obtuvo el valor relativo del área debajo de la curva y se los relativizó para cada uno de los tratamientos. Los datos fueron analizados mediante regresiones lineales y ANOVA entre rectas y entre curvas. Para el análisis de los datos se utilizó el programa InfoStat (Infostat, 2010).

5.6 Resultados

La Dap del suelo en las macetas presentó un valor promedio de $1,12 \text{ g cm}^{-3}$ (error estándar = $0,03 \text{ g cm}^{-3}$). El rastrojo de soja presentó una composición de 1,02 % de N y 53,6 % de C, lo cual determinó una relación C/N de 52,46; mientras que el rastrojo de maíz presentó una composición de 0,52 % de N y 55,7 % de C, con una relación C/N de 106,58. En el día 1 el EPSA varió entre 40 y 75%, mientras que para el resto del ensayo lo hizo entre 58 y 90%, con importante variabilidad entre los tratamientos (**Figura 5.3A**). La temperatura del suelo varió entre 15 y 26°C (**Figura 5.3B**).

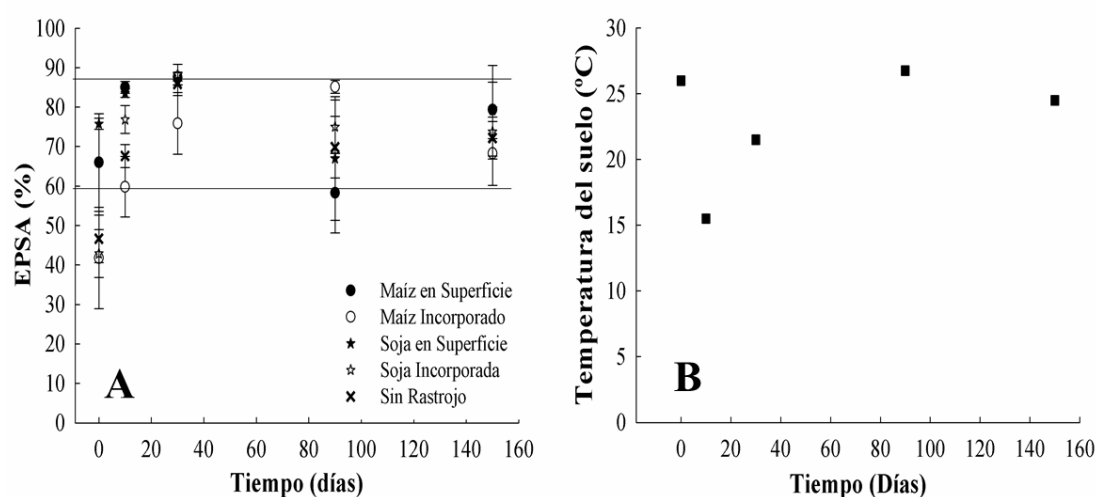


Figura 5.3. A) Espacio poroso saturado de agua (EPSA) y B) la temperatura del suelo en función del tiempo de muestreo. En A) La línea horizontal marca el 60% del EPSA. Las líneas verticales representan el error estándar.

La tasa de descomposición fue máxima al comienzo del ensayo y disminuyó de manera diferente según el tratamiento. La velocidad a la cual disminuyó la tasa de descomposición estuvo principalmente afectada por la ubicación *–en superficie o incorporado–* del residuo.

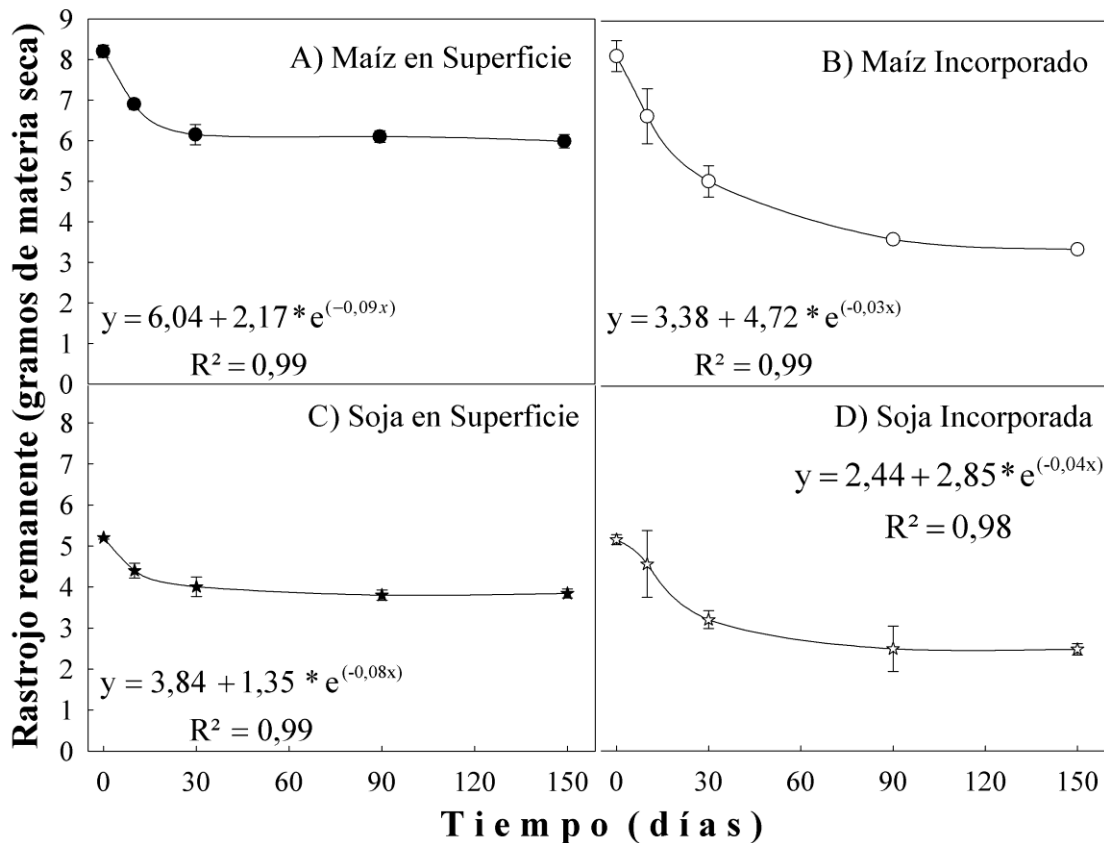


Figura 5.4. Rastrojo remanente en función del tiempo de muestro. Las líneas verticales representan el error estándar.

Todos los tratamientos partieron de un valor similar (en torno a $55 \pm 8,52 \text{ mg kg}^{-1}$) de concentración de N-NO_3^- . En el caso del maíz *-en superficie e incorporado-* la concentración de N-NO_3^- se mantuvo relativamente constante durante los primeros 30 días y luego aumentó (**Cuadro 5.1**). El residuo de soja *en superficie* presentó un contenido de N-NO_3^- elevado y relativamente constante a partir del día 10. La soja *incorporada* mostró aumento en el contenido de N-NO_3^- con el paso de los días, un pico en el día 90 y luego una disminución. Finalmente, el suelo sin rastrojo presentó un pico en el contenido de N-NO_3^- entre los días 10 y 30 y luego una disminución (**Cuadro 5.1**).

Cuadro 5.1. Concentración de N-NO_3^- en el suelo y su respectivo error estándar para los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Día	Concentración de N-NO_3^- (mg kg^{-1})	Error Estandar
Maíz en Superficie	0	48,81	9,80
Maíz en Superficie	10	67,17	17,90
Maíz en Superficie	30	64,35	31,58
Maíz en Superficie	90	159,29	26,92
Maíz en Superficie	150	134,16	53,43
Maíz Incorporado	0	52,97	9,68
Maíz Incorporado	10	53,06	29,77
Maíz Incorporado	30	23,24	5,71
Maíz Incorporado	90	125,50	27,22
Maíz Incorporado	150	134,95	20,88
Soja en Superficie	0	41,69	9,52
Soja en Superficie	10	84,64	20,27
Soja en Superficie	30	108,49	26,34
Soja en Superficie	90	70,97	17,60
Soja en Superficie	150	100,48	15,43
Soja Incorporada	0	58,88	2,68
Soja Incorporada	10	68,35	19,95
Soja Incorporada	30	93,66	37,32
Soja Incorporada	90	232,28	47,38
Soja Incorporada	150	59,65	37,49
Sin Rastrojo	0	59,63	6,29
Sin Rastrojo	10	237,80	10,83
Sin Rastrojo	30	219,47	34,42
Sin Rastrojo	90	100,96	26,82
Sin Rastrojo	150	121,56	54,03

En la **Figura 5.5** se observa que las diferencias en la concentración de N-NO_3^- entre los tratamientos con rastrojo y el suelo sin rastrojo fueron prácticamente nulas al inicio del ensayo. En el caso del maíz *-en superficie e incorporado-* la diferencia respecto al suelo sin rastrojo fue negativa durante los primeros 30 días y luego aumentó (**Figura 5.5. A, B**). El tratamiento con residuo de soja en *superficie* mostró un comportamiento similar al observado para el rastrojo de maíz (**Figura 5.5. C**). El tratamiento con soja *incorporada* mostró valores negativos en el contenido de N-NO_3^- para los primeros 30 días de muestreos, un pico positivo en el día 90 y luego una disminución (**Figura 5.5. D**).

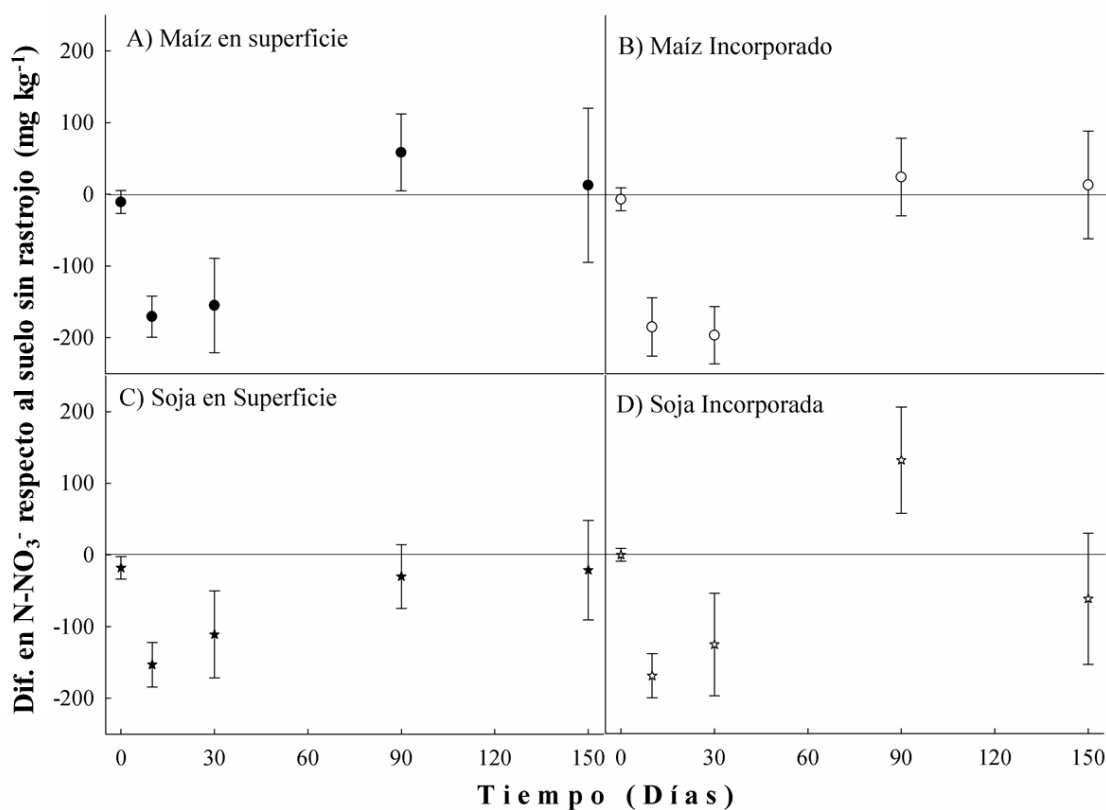


Figura 5.5. Diferencia entre la concentración de nitrógeno en forma de nitrato (N-NO₃⁻) del tratamiento con rastrojo y el suelo sin rastrojo en función del tiempo. La línea horizontal marca el cero en la concentración de N-NO₃⁻. Las líneas verticales representan el error estándar.

La emisión de N₂O presentó valores más elevados y variables en el momento inicial (día 1) que en el resto del ensayo, por lo que se consideró necesario separar este día del resto de los días para poder realizar el análisis de los datos. Los valores medios de emisión de N₂O y sus respectivos errores estándar correspondientes al día 1 del ensayo se presentan en el **Cuadro 5.2**. Cuando se analizaron los valores correspondientes al día 1 del ensayo, se halló una relación que ajusto a una función cuadrática entre la emisión de N₂O y el EPSA (**Figura 5.6**).

Cuadro 5.2. Emisión media de óxido nitroso (N₂O) y su respectivo error estándar correspondiente al día 1 para los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Emisión de N ₂ O (µg N-N ₂ O m ⁻² h ⁻¹)	Error Estandar
Maíz en Superficie	671,41	190,14
Maíz Incorporado	882,66	851,77
Soja en Superficie	519,78	217,01
Soja Incorporada	184,75	112,42
Sin Rastrojo	89,80	34,22

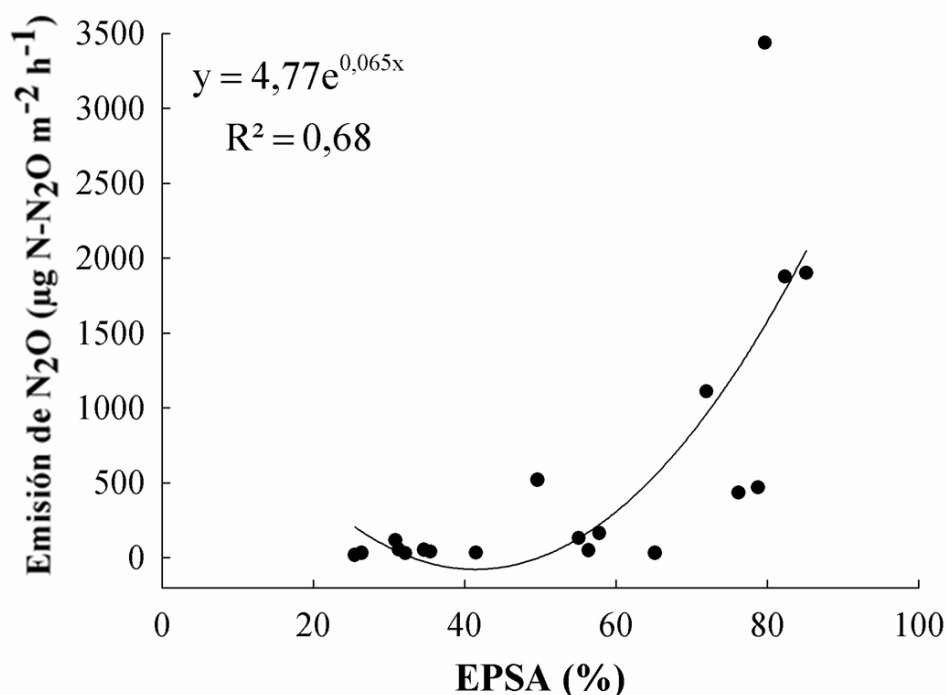


Figura 5.6. Emisión de óxido nitroso (N₂O) en función del espacio poroso saturado de agua expresado en porcentaje (EPSA %), para el muestreo correspondiente al día 1.

Durante los días posteriores al día 1 del ensayo, los valores de emisión de N₂O fueron entre uno y dos órdenes de magnitud inferiores a los observados en el primer día de medición (**Figura 5.7**). Los tratamientos correspondientes a rastrojo *en superficie* - maíz y soja- presentaron los mayores valores de emisión de N₂O al comienzo del ensayo, con una disminución en función del tiempo y un valor relativo de área bajo la curva de 100,0 y 66,91%, respectivamente (**Figura 5.7A,C**). En los tratamientos con residuo *incorporado*-maíz y soja-la emisión de N₂O fue moderada y constante durante todo el ensayo, con valores relativos de área bajo la curva de 55,44 y 54,79% respectivamente (**Figura 5.7B, D**). Finalmente el tratamiento sin rastrojo presentó un pico en el día 30 y un valor relativo de área bajo la curva llamativamente elevado (90,49, **Figura 5.7 E**).

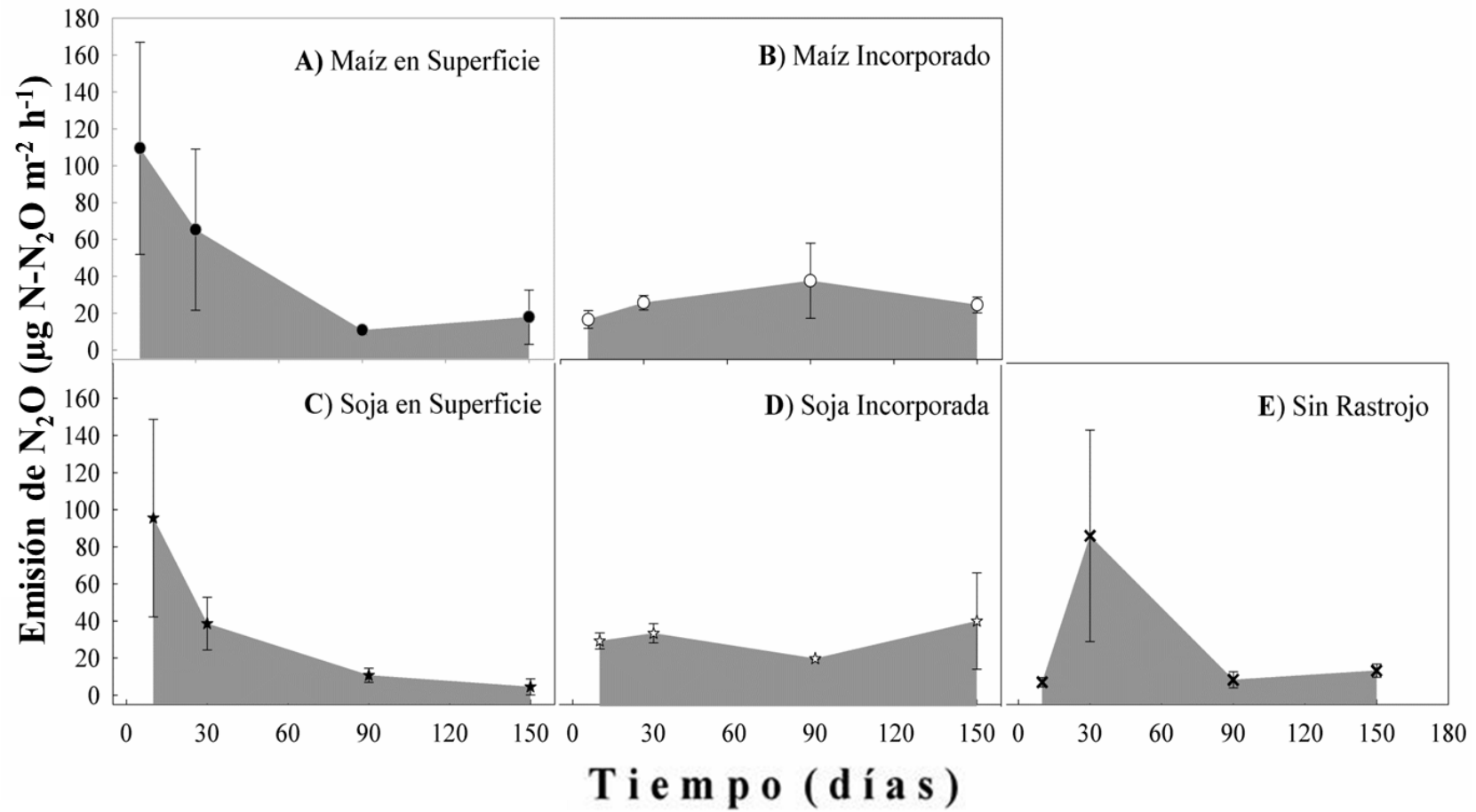


Figura 5.7. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función del tiempo de muestreo y su respectiva área bajo la curva para los diferentes tratamientos. Cada punto representa el valor promedio de 4 repeticiones y las barras verticales representan el error estándar.

Cuando se analizó la emisión de N_2O correspondiente a los días 10, 30, 60 y 150 de todos los tratamientos, no se halló relación entre la concentración de $N-NO_3^-$ en el suelo y los valores de emisión de N_2O (**Figura 5.8A**). En cambio, la relación entre emisión de N_2O y el EPSA mostró que los valores de emisión fueron bajos cuando el EPSA fue menor que 77% y altamente variables cuando EPSA superó 77% (**Figura 5.8B**). La emisión de N_2O se analizó entonces en forma separada, cuando el EPSA fue mayor al 77%.

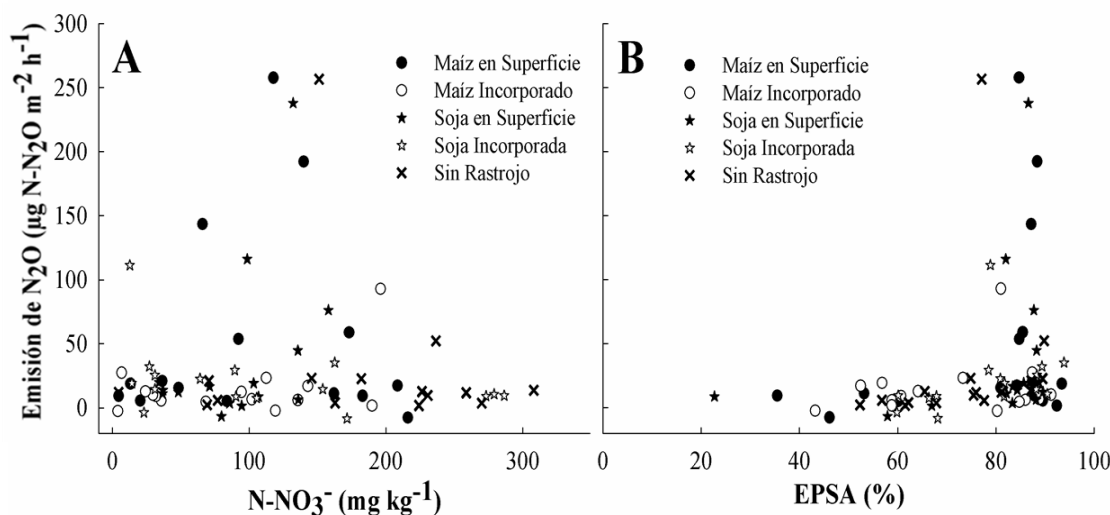


Figura 5.8. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función de la concentración denitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo (**A**) y del espacio poroso saturado de agua expresado en porcentaje (EPSA %, **B**).

La **Figura 5.9** muestra la variación en la emisión de N_2O en función del contenido de $N-NO_3^-$ cuando el EPSA superó el 77%. Los tratamientos con rastrojo *en superficie* –maíz y soja– mostraron relaciones positivas entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ (**Figura 5.9 A, C**) en ambos casos con pendientes lineales elevadas, pero que explicaron sólo el 38 y el 33% de la variabilidad en la emisión de N_2O para el tratamiento con maíz y soja, respectivamente. El residuo de maíz *incorporado* también ajustó a una función lineal, en este caso con pendiente sensiblemente inferior y coeficiente de determinación mayor (43%; **Figura 5.9 B**). No se halló relación entre la emisión de N_2O y la concentración de $N-NO_3^-$ en el tratamiento con residuo de soja *incorporada* y en el tratamiento de suelo sin rastrojo (**Figura 5.9 D, E**).

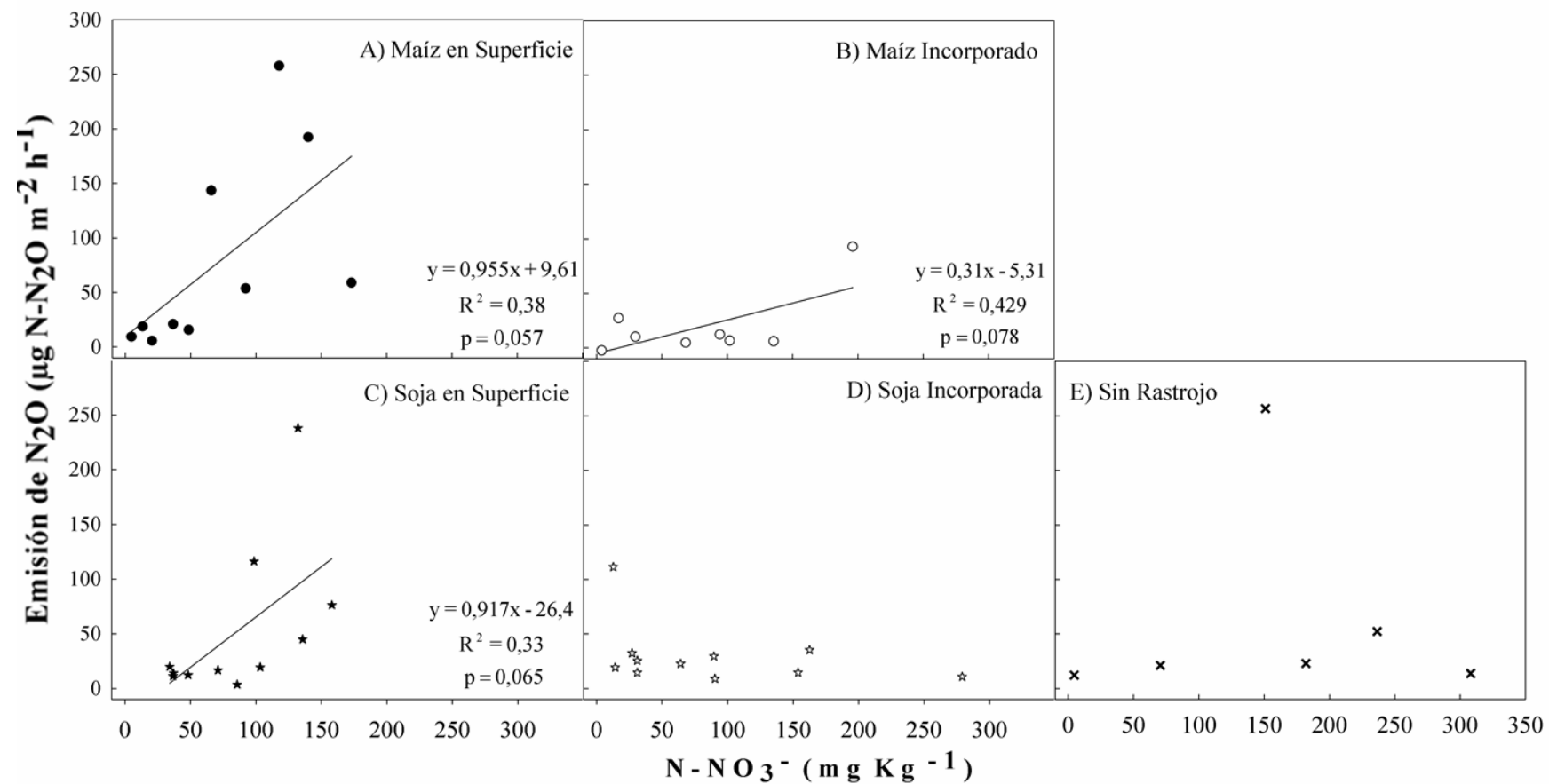


Figura 5.9. Emisión de óxido nitroso (N_2O) en función de la concentración de nitrógeno en forma de nitrato ($N-NO_3^-$) del suelo cuando el espacio poroso saturado de agua (EPSA) superó el 77%. Los valores de emisión de N_2O correspondientes al día 1 no fueron incluidos para este análisis.

5.7. Discusión

En el presente ensayo el valor promedio de Dap del suelo dentro de las macetas ($1,12 \text{ g cm}^{-3}$; error estándar = $0,03 \text{ g cm}^{-3}$) fue sensiblemente inferior al observado en el campo del cual fue obtenido el suelo ($1,4 \text{ g cm}^{-3}$, Capítulo 3). Ello posiblemente estuvo relacionando con que el suelo utilizado para el ensayo fue previamente tamizado. Al tamizar un suelo, se rompe la estructura del mismo, causando aflojamiento y aumento de la porosidad total (Materechera et al., 1994; Taboada et al., 2004).

La alta variabilidad del EPSA entre muestras correspondientes al día 1 del ensayo se debió al humedecimiento diferencial del suelo. Esto se debió a que las macetas nunca fueron regadas y sólo recibieron agua desde abajo por capilaridad. Por este motivo, el día 1 no todas las macetas presentaron igual EPSA (**Figura 5.3A**).

Con excepción del día 1, los tratamientos presentaron un porcentaje del EPSA superior al 58% y una temperatura del suelo mayor que 15°C (**Figura 5.3A, B**). Estos valores de EPSA y de temperatura del suelo habrían permitido una tasa de descomposición alta durante todo el tiempo que duró el ensayo, sin limitar la producción de N_2O (Keeney et al., 1979; Cosentino et al., 2013).

Cuando los residuos de maíz y soja se encontraron sobre la superficie del suelo en la maceta, la tasa de descomposición fue menor a la observada cuando ambos residuos se encontraron incorporados. Coincidentemente, otros autores también observaron mayor tasa de descomposición de residuos incorporados que de aquéllos dejados sobre la superficie del suelo, tanto en invernáculo (Lachnicht et al., 2004 y Khalil et al., 2005), como a campo (Burgess et al., 2002). La mayor tasa de descomposición en los suelos con residuo incorporado (ej. LC) se relacionó con la mayor relación superficie/volumen del residuo en contacto con los microorganismos del suelo (Burgess et al., 2002). Por el contrario, Al-kaisi y Guzman (2013) realizaron un ensayo en invernáculo y observaron que la tasa de descomposición del residuo de maíz incorporado fue significativamente menor que la del residuo no incorporado. Sin embargo, esto fue atribuido a la mayor cantidad de hongos en la superficie del suelo; esto no fue medido en la presente tesis.

La mayor magnitud (uno o dos órdenes superior) en la emisión de N_2O observada para la primera fecha de muestreo posiblemente se debió al efecto de “shock osmótico” causado por humedecer un suelo que se encontraba seco desde hacía varios meses (Scholes et al. 1997; Fierery Schimel, 2002). Si bien este efecto debe ser considerado un “artificio” propio del ensayo, no se diferencia demasiado de lo que puede suceder a campo luego de un evento de lluvia sobre suelos que han permanecido secos durante un tiempo. La elevada emisión de N_2O inicial, se atribuye a la incapacidad de los microorganismos de utilizar los nutrientes de manera eficiente durante los primeros días después de la humectación (Fierer y Schimel, 2002). En suelos de la sabana africana Scholes et al. (1997) también observaron que la emisión de

N₂O se incrementó a los 30 minutos después del evento de lluvia y se mantuvo constante al menos durante 5 horas.

Los valores de emisión de N₂O registrados durante la primera fecha de muestreo presentaron una relación exponencial positiva con el EPSA (**Figura 5.6**). Resultados similares fueron observados tanto a campo como en invernáculo cuando la concentración de N mineral en el suelo no fue limitante (Smith et al. 1998; Dobbie y Smith, 2003; Schindlbacher y Zechmeister-Boltenstern 2004).

La disponibilidad de N-NO₃⁻ en el suelo no acompañó la descomposición del residuo en ninguno de los tratamientos. Esto posiblemente se debió a la alta inmovilización inicial del N por los microorganismos del suelo. En efecto, se conoce que cuando la concentración de N del residuo es menor que el 2% se produce inmovilización neta por parte de los microorganismos del suelo (Seneviratne, 2000; Trinsoutrot et al., 2000). La dinámica de la emisión de N₂O tampoco siguió la disponibilidad de los nitrato. En este caso, la emisión de N₂O se vio afectada por la ubicación del residuo y no por su calidad. Para los tratamientos correspondientes a rastrojo en superficie -maíz y soja- se registró un pico de emisión de N₂O al comienzo del ensayo (Figura 5.7A y C). Por otra parte, los tratamientos con residuo incorporado –maíz y soja- presentaron valores de emisión de N₂O moderados y constantes durante todo el ensayo (Figura 5.7B y D).

Rochette (2010) divide a los factores que regulan la emisión de N₂O en dos grupos -próximos y distales-. Los factores próximos, entre los que se encuentra la relación C/N del residuo, son aquéllos que afectan en forma directa la emisión de N₂O desde el suelo. Por otra parte, los factores distales, entre los que encuentra el contacto entre el suelo y el residuo, actúan indirectamente. En este marco, se esperaría una mayor influencia de los factores próximos sobre la emisión de N₂O, es decir, de la calidad de rastrojo y, en menor medida, de los factores distales como la ubicación del residuo. Sin embargo, los resultados de este ensayo contradicen esta idea, pues muestran que la ubicación del residuo fue un factor más importante que su calidad.

En este trabajo, la emisión de N₂O acumulada fue mayor en los tratamientos con rastrojo en superficie que en aquéllos con el residuo incorporado al suelo. Estos resultados difieren de lo encontrado por otros autores como Baggs et al. (2000) y Khalil et al. (2005) quienes muestran que la aplicación de residuos con alta relación C/N estimula la inmovilización microbiana del N liberado durante degradación del residuo, lo cual disminuye la emisión de N₂O. Por el contrario, la aplicación de residuos de cultivo ricos en N (baja relación C/N) puede aumentar la emisión de N₂O desde el suelo.

Cuando se analizaron conjuntamente los resultados de todos los tratamientos, no se observó relación entre la emisión de N₂O y el contenido de N-NO₃⁻ del suelo (**Figura 5.8A**). Estos resultados difieren de lo encontrado por Ambus (2005) quien observó una correlación positiva entre la emisión de N₂O y el contenido de NO₃⁻ del suelo. También se oponen a lo hallado por Dalal et al. (2010), quienes obtuvieron una correlación negativa entre ambas variables.

En relación al valor crítico de 77% del EPSA, el cual separó los valores de emisión de N_2O bajos de aquéllos altamente variables (**Figura 5.8**). Parece haber una correspondencia con lo observado a campo en el Capítulo 3 de esta tesis, en el cual el valor umbral fue de 58,5%. Los valores umbral parecen indicar el porcentaje del EPSA a partir del cual cambia la participación relativa de los procesos de nitrificación y desnitrificación sobre la emisión de N_2O (Linn y Doran, 1984).

En el presente ensayo el valor umbral del EPSA a partir del cual se produce el cambio del proceso formador de N_2O , parecería ser mayor que el observado a campo y por otros autores como Linn y Doran (1984) y Alvarez et al. (2012). Este valor umbral superior puede ser atribuido al tamizado del suelo, el cual redujo el tamaño de los agregados y la proporción de los mismos que se encontraron en anaerobiosis permanente. En efecto, Sexstone et al. (1985) no hallaron zonas anaeróbicas permanentes en agregados menores que 4 mm de diámetro. De este modo, en el suelo de nuestro ensayo parecería que fue necesario un valor umbral del porcentaje del EPSA mayor al observado en el suelo del campo (77% vs 58.5%) para que la emisión de N_2O pasara de ser baja y poco variable (menos del 77% de EPSA) a altamente variable.

Cuanto mayor es la humedad del suelo, es mayor el EPSA y la proporción del suelo que se encuentra en anaerobiosis. El proceso de desnitrificación (anaeróbico) emite mayor cantidad de N_2O que el proceso de nitrificación (aeróbico). Sumado a esto, un valor bajo en la Dap del suelo de las macetas, podría estar causando elevada cantidad de poros de aireación y por lo tanto alta difusión de O_2 dentro de los agregados (Glinski y Stepniewski 1985). Esto llevaría a necesitar un mayor porcentaje del EPSA (77%) en comparación con lo observado a campo (58,5%) para que el proceso anaeróbico de desnitrificación sea el principal responsable en la emisión de N_2O . Por otro lado, Clayton et al. (1997) determinaron 65% del EPSA como valor umbral o crítico a partir del cual la emisión de N_2O aumenta significativamente; mientras que Alvarez et al. (2012) en un ensayo realizado en un suelo Haplustol típico en Manfredi, provincia de Córdoba y determinaron que el principal factor que determinó la emisión de N_2O fue el EPSA con un valor umbral de 52%. Todo esto pone de manifiesto que diferentes suelos presentan distintos valores umbral.

Cuando el EPSA superó el 77%, la alta variabilidad de la emisión de N_2O (**Figura 5.8**) fue en parte explicada por el contenido $N-NO_3^-$. Esto ocurrió para los tratamientos con rastrojo de maíz -en superficie e incorporado- y para el tratamiento con rastrojo de soja en superficie (**Figuras 5.9**). También aquí se encuentra paralelismo con lo encontrado en el Capítulo 3 de esta Tesis, que muestra a campo a los nitrato como un factor de 3^{er} nivel de jerarquía, luego de la temperatura del suelo y el EPSA. Por otra parte, este rol de los nitrato fue también observado por Dalal et al. (2010), en un suelo Vertisol en Australia.

5.8 Conclusiones

En este capítulo la emisión de N_2O desde el suelo fue explicada por dos variables reguladoras, las cuales se ordenaron jerárquicamente. La principal variable que mostró participación relevante sobre los procesos de emisión de N_2O fue el EPSA y lo hizo a través de un valor umbral (77%), el cual separó a los valores de emisión de N_2O en dos grupos. Cuando el EPSA superó el valor umbral, la emisión de N_2O fue parcialmente explicada por la concentración de N-NO_3^- del suelo.

El suelo con residuo de soja –en superficie e incorporado- no presentó un pico de emisión de N_2O más temprano que el suelo con residuo de maíz, por lo cual se reunieron evidencias para rechazar la hipótesis a). El suelo con residuo de soja tampoco presentó mayor emisión de N_2O a lo largo del ensayo. Los tratamientos con residuo incorporado –maíz y soja-no mostraron un pico de emisión de N_2O al comienzo del ensayo y, por lo tanto, también se reunieron evidencias para rechazarla hipótesis b). Estos resultados dan mayor relevancia a la ubicación del residuo como principal regulador de la emisión de N_2O , siendo al menos inicialmente, mayor la emisión de N_2O cuando el rastrojo se encuentra sobre la superficie del suelo.

Finalmente, debe considerarse el efecto de “shock osmótico” que se produce cuando un suelo que se estuvo seco por un periodo de tiempo prolongado, es humedecido. Considerar este efecto ayudará a captar mejor la variación –un pico, seguido por la estabilización- en la emisión de N_2O evitando la sobreestimación en la medición. Es conveniente, al menos en la estación más cálida, realizar el muestreo de N_2O después de un periodo de lluvia por dos o tres días consecutivos.

Capítulo 6. Discusión, conclusión general, y opciones a futuro.

6.1 Introducción

A fin de guiar al lector en la discusión, se realizó un diagrama del racional de la tesis y sus principales hallazgos (**Figura 6.1**). La discusión general se subdividió en cuatro ítems: a) principales hallazgos (propios de nuestra región de estudio y/o clima); b) implicancias prácticas-metodológicas; c) recomendaciones o planes a futuro; y d) futuras líneas de investigación.

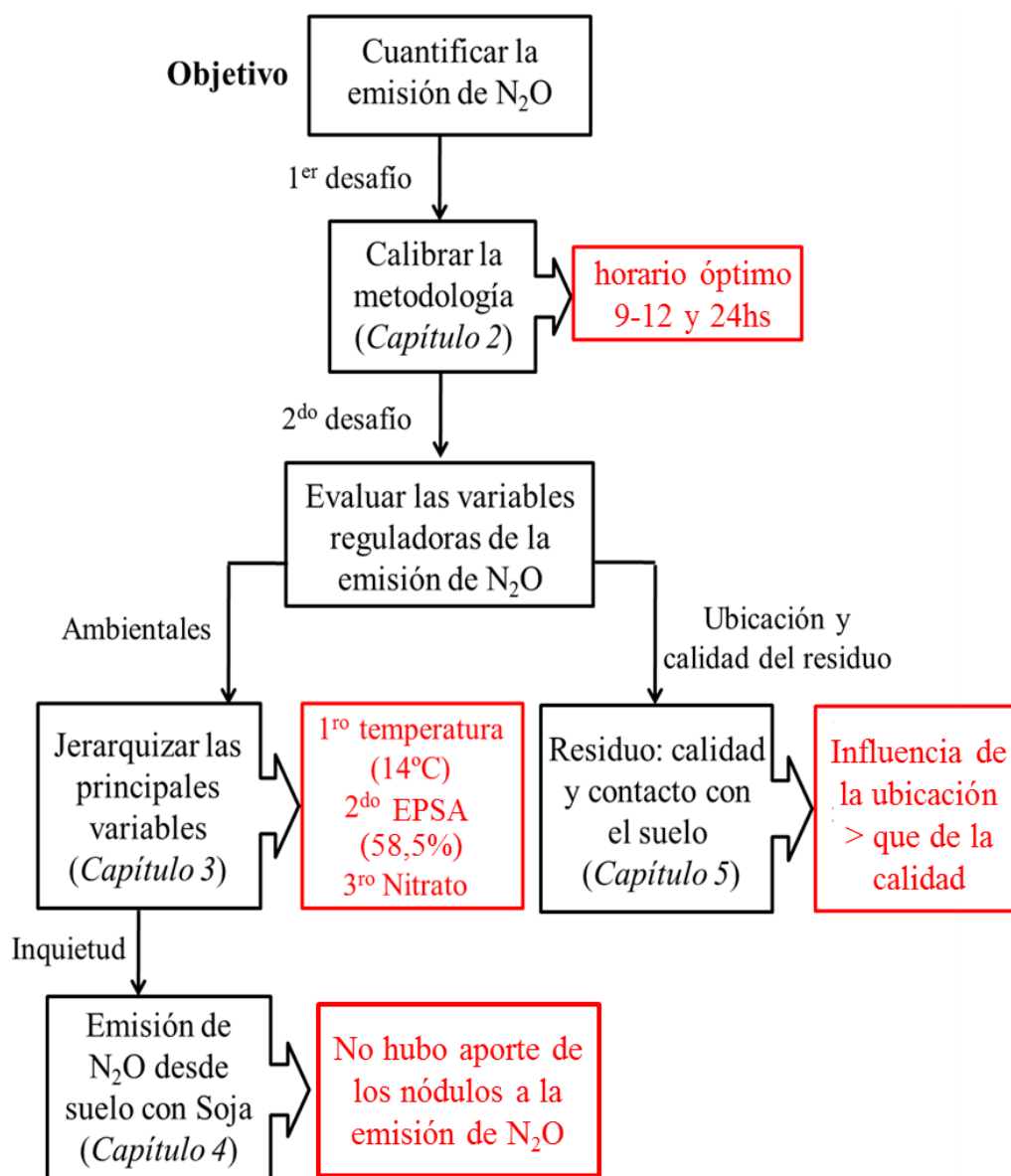


Figura 6.1. Diagrama del racional de la Tesis y sus principales hallazgos (cuadros rojos).

El objetivo general de la Tesis consistió en evaluar a campo el efecto de las principales variables reguladoras de la emisión de N₂O y establecerlas en un orden jerárquico de acción. Para ello, la hipótesis de trabajo propuesta fue la existencia de un orden jerárquico entre las variables reguladoras de la emisión de N₂O. Los resultados hallados a lo largo de la tesis, en especial los correspondientes al ensayo a campo

(Capítulo 3) y al ensayo en invernáculo (Capítulo 5) mostraron que la intervención de los factores reguladores de la emisión de N_2O siguieron un orden jerárquico. Por ello, puede afirmarse que las evidencias no fueron suficientes para rechazar la hipótesis planteada.

A fin de evaluar el efecto de las principales variables reguladoras de la emisión de N_2O , fue necesario recurrir tanto a ensayos de campo, como de invernáculo. Incluso se realizaron ensayos originalmente no previstos, los cuales fueron derivados de resultados previamente obtenidos, como por ejemplo, el analizar la influencia del cultivo de soja nodulante y no nodulante sobre la emisión de N_2O . La hipótesis del ensayo realizado en el Capítulo 4 fue que el cultivo de soja nodulante emitiría mayor N_2O desde la zona cercana a la raíz del cultivo de soja no nodulante. Los resultados de este ensayo fueron suficientes para rechazar la hipótesis planteada.

Asimismo, se había planteado diferente tasa de emisión de N_2O para las distintas ubicaciones dentro del lote. Esta hipótesis surgió de la observación a campo de diferente proporción y espesor de la estructura laminar y/o masiva dependiendo de la ubicación en el lote. La ubicación en el lote se encuentra relacionada con la intensidad de tránsito de maquinarias. Los resultados del Capítulo 3 de esta tesis no mostraron diferencias significativas de las variables físicas medidas (Dap, infiltración y resistencia a la penetración), pero se observó una tendencia hacia peores condiciones físicas en el suelo de Cabecera que en el suelo de Centro de lote. Se identificaron estructuras de tipo desfavorable (laminar y masiva) con mayor espesor y proporción en la Cabecera de lote. Estas diferencias en el estado físico del suelo entre ubicaciones parecieron no alcanzar para desencadenar las diferentes tasas de emisión de N_2O . En este caso, la evidencia hallada en el Capítulo 3 no reveló el rol que se suponía iba a ejercer la ubicación dentro del lote, por lo que la hipótesis fue rechazada.

6.2 Principales hallazgos

Debido a que la cuantificación de la emisión de N_2O a campo es relativamente reciente en nuestro país, una primera necesidad fue obtener un valor local, el cual se generó en el Capítulo 2 de esta tesis. En él se realizó un aporte metodológico esencial que fue la determinación del momento del día más representativo para realizar las mediciones de N_2O en nuestro suelo y bajo nuestras condiciones de estudio. Como resultado se determinó que el horario más representativo fue a las 9, a las 12 y a las 24h.

Una vez ajustada la metodología de medición diaria, se realizó un ensayo a campo con mediciones estacionales, con el fin de captar la variación ambiental en la emisión de N_2O . A partir de este trabajo realizado en la zona productora núcleo de cultivos agrícolas, se logró jerarquizar tres de las principales variables ambientales reguladoras de la emisión de N_2O , se obtuvieron sus valores umbral, y se logró conformar un árbol de decisión con pautas mínimas para optimizar el esfuerzo de muestreo (Capítulo 3). El principal factor regulador de la emisión de N_2O fue la temperatura del suelo con un valor umbral de $14^{\circ}C$. El segundo factor fue el porcentaje de EPSA con un valor umbral de 58,5% y el tercero fue concentración de $N-NO_3^-$ del suelo. La jerarquización de las

variables, así como la obtención de valores umbral a partir de los cuales se producen cambios significativos en la tasa de emisión del N_2O , es un conocimiento novedoso potencialmente extrapolable a otros suelos con similares condiciones edafo-climáticas. Su aplicabilidad podría ser derivada hacia la modelación de situaciones y la predicción de momentos con diferente grado de susceptibilidad a emitir N_2O .

El ensayo realizado a campo dejó como cuestión a resolver como la concentración de nitrato afecta la emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja. Con el fin de arrojar luz sobre este interrogante, se realizó un ensayo a campo con plantas de soja genéticamente modificadas (en líneas nodulantes y no nodulantes). Esta duda fue abordada en el Capítulo 4 de esta tesis. Los resultados obtenidos no mostraron mayor emisión de N_2O desde el suelo con cultivo de soja nodulante que desde el cultivo de soja no nodulante. Estos resultados son opuestos tanto a lo observado en el campo como a lo propuesto por la metodología por defecto que presenta el IPCC para estimar la emisión de N_2O en este cultivo (IPCC, 2007). Los resultados obtenidos en la presente tesis no aportan ninguna evidencia en favor del uso de la metodología propuesta por el IPCC para el cálculo de la emisión de N_2O .

Finalmente, se evaluó el impacto de la calidad (relación C/N) y el grado de contacto entre el rastrojo y el suelo sobre la emisión de N_2O , mediante un ensayo en invernáculo bajo condiciones semi-controladas (Capítulo 5). Los resultados de este ensayo mostraron que, la emisión de N_2O se vio más afectada por la ubicación que por la calidad del rastrojo al menos en el corto plazo (5 meses), siendo la emisión en el sistema con rastrojo incorporado más baja y homogénea en el tiempo. Si bien no se pretende extrapolar los resultados de un ensayo de invernáculo a lo que sucede en el campo, los resultados obtenidos implican un llamado de atención sobre el impacto que podría ejercer un sistema como la SD sobre la emisión de N_2O , lo cual necesariamente deberá ser testeado en ensayos de campo.

Otro resultado interesante e inesperado fue el efecto que el humedecimiento del suelo seco tuvo sobre la emisión de N_2O . Esto prende una luz de alerta sobre la metodología de medición. Es posible que durante los meses de verano en los cuales la elevada demanda atmosférica seca la capa superficial de suelo, la emisión de N_2O inmediatamente posterior a un evento de lluvia sea al menos un orden de magnitud superior al que se observaría en los días subsiguientes.

6.3 Implicancias prácticas-metodológicas

La obtención del horario del día más representativo de la emisión de N_2O media diaria fue el punto de partida de esta tesis. Además, brindó la base para la correcta cuantificación del N_2O en el resto de los Capítulos. Este horario de muestreo definido como el más adecuado, fue tomado luego por varios investigadores al momento de realizar sus mediciones, tanto en la Región Pampeana como en sus alrededores.

También, fue el horario elegido por la red nacional de medición de N₂O que se está llevando a cabo actualmente en la Argentina.

La zona templada de la Argentina presenta variaciones meteorológicas estacionales muy marcadas a lo largo del año. Por ejemplo, durante el invierno la temperatura del suelo es a menudo inferior a la mínima registrada para generar la emisión de N₂O (14°C). Por otro lado, durante el verano la elevada temperatura actúa disminuyendo la humedad del suelo por debajo de la mínima registrada para que ocurra emisión debido al proceso de desnitrificación (60% EPSA), principal proceso emisor de N₂O. Esta variabilidad estacional indicaría que existen períodos del año potencialmente largos con emisiones de N₂O bajas, nulas o incluso negativas (absorción de N₂O), lo cual puede hacer disminuir el total acumulado anual. Estos resultados pueden ser útiles para alentar la generación de factores de emisión locales, que eviten la utilización de los factores por defecto de emisión de N₂O del IPCC para suelos de clima templado (IPCC 2001; 2006). Estos factores podrían ser generados por aproximaciones más detalladas (ej. Tier 2 o Tier 3) que tengan en cuenta las particularidades del clima de cada región o país. El árbol de decisión generado en el Capítulo 3 (**Figura 3.11**) puede ser una herramienta útil para generar factores de emisión propios a nivel Tier 2 o 3 para nuestro país.

Los grupos de emisión de N₂O obtenidos a través del análisis de árbol de regresión podrían ser útiles para decidir la intensidad y distribución en la toma de muestras de N₂O desde el suelo a lo largo del año. Esto permitiría el ahorro en tiempo y esfuerzo en el trabajo de campo. A modo de ejemplo, podría pensarse en disminuir la frecuencia de muestreo cuando la temperatura del suelo se encuentre por debajo de los 14°C. Bajo esas condiciones la emisión de N₂O es probablemente baja o nula; siendo en algunos casos negativa (absorción de N₂O desde el suelo). La baja temperatura (< 14°C) es típica de encontrar durante los meses de invierno en una región templada, como la Pampa argentina. En este caso, el control periódico de temperatura del suelo mediante algún método sencillo como puede ser un sensor de temperatura, ahorraría esfuerzo de muestreo. La tasa de muestreo también podría espaciarse cuando el porcentaje de EPSA sea menor que el 60%, dado que la mayor proporción de la emisión de N₂O es generada por el proceso de desnitrificación, el cual ocurre cuando el EPSA es elevado. Finalmente, cuando el EPSA se encuentra por encima de 60% y la temperatura del suelo es mayor que 14°C, como a menudo sucede durante el otoño y la primavera, sería conveniente aumentar los esfuerzos de medición de N₂O con el fin de capturar la mayor variabilidad ambiental.

En climas templados, la elevada demanda atmosférica durante los meses de verano reduce la humedad del suelo, al menos en los primeros centímetros, considerando el efecto que el humedecimiento del suelo seco tuvo sobre la emisión de N₂O. Un aporte metodológico relevante podría ser ampliar el periodo de medición de N₂O al menos dos o tres días después de la lluvia bajo estas circunstancias. Esta ampliación en el periodo de medición permitiría captar mejor la variabilidad y evitar una sobreestimación en la emisión de N₂O.

6.4 Opciones de mitigación y recomendaciones futuras

El mercado mundial y particularmente los países emergentes generan una fuerte y sostenida demanda de todo tipo de alimentos con una previsión para nuestro país (solamente en granos) de 160 millones de toneladas para el 2020 según surge del Plan Estratégico Agroalimentario (MINAGRI, 2013). Argentina, es uno de los pocos países del mundo que está en condiciones de cubrir significativamente esa demanda. Por otro lado, nuestro país depende de la producción agropecuaria para la entrada de divisas, por lo que debe seguir produciendo y aprovechando la oportunidad del mercado internacional. Este aumento en la producción agrícola debiera ser realizado sobre la base de una mayor eficiencia en el uso del N (Snyder et al., 2009), minimizando las pérdidas y mitigando la emisión de N_2O .

Un agrosistema puede comportarse tanto como fuente o como sumidero de N_2O , dependiendo de las prácticas de gestión que se realicen sobre él (Lal et al., 2011). Los desafíos para mitigar la emisión de N_2O son sustancialmente diferentes que los existentes con el resto de los GEI, como el CO_2 y el CH_4 . Esto se debe a que la emisión de N_2O proveniente del sector agrícola es generada por procesos microbianos, los cuales utilizan compuestos nitrogenados como sustrato. Sumado a esto, la aplicación de N en el suelo es esencial para el aumento del rendimiento (IPCC, 2007; Davidson, 2012). El aumento de la emisión de N_2O procedente de la agricultura es inducida en gran medida por los insumos elevados de N a través de fertilizantes nitrogenados sintéticos o estiércol (Davidson, 2009). Por esto, cualquier aporte para la disminución en la emisión de N_2O desde el suelo agrícola, es fundamental para mitigar el cambio climático.

Si bien, la aplicación de fertilizante nitrogenado a los cultivos es necesaria para garantizar altos rendimientos, el monitoreo de las principales variables edáficas reguladoras de la emisión de N_2O puede ser una manera útil y sencilla de mitigar la emisión de este gas. Conocer la marcha del $N-NO_3^-$, la temperatura y la humedad del suelo a lo largo del tiempo, permitiría estimar el cambio en la susceptibilidad del suelo a la emisión de N_2O para cada cultivo. Teniendo en cuenta esto, se podrá elegir el momento óptimo para realizar por ejemplo una fertilización o un riego. Finalmente, en aquellos casos en los cuales sea imposible no realizar la fertilización a pesar de la alta susceptibilidad de emisión de N_2O , podría utilizarse la aplicación de un fertilizante de liberación lenta como estrategia de mitigación (Snyder et al., 2009).

Varios autores atribuyen la emisión de N_2O proveniente de los cultivos leguminosos a la descomposición de los nódulos y las raíces ricas en N hacia el final de ciclo del cultivo. Cuando la disponibilidad de N en el suelo excede el tomado por el cultivo, se incrementa el riesgo en la emisión de N_2O (Snyder et al., 2009). Por este motivo, una buena práctica de mitigación podría ser la intensificación y la alternancia de cultivos leguminosos con cultivos no leguminosos. De esta manera, el N disponible por la descomposición subterránea del cultivo leguminoso es tomado por el cultivo no leguminoso, reduciendo el riesgo de emisión de N_2O y el costo de aplicación de fertilizante.

Otra forma de mitigar la emisión de N_2O podría darse a partir de la descompactación del suelo, con mayor aireación y ruptura de los agregados. Los agregados pequeños poseen menor proporción de sitios internos anaeróbicos permanentes (Sexstone et al., 1985). Por esto, la descompactación del suelo podría aumentar el valor umbral de EPSA, a partir del cual el proceso generador de la emisión de N_2O deja de ser la desnitrificación para pasar a ser la nitrificación. El proceso de descompactación del suelo no debe ser necesariamente mecánico, una alternativa a este proceso es dada por las raíces de los cultivos. La intensificación (generación continua de poros por el sistema radical) y alternancia de cultivos (diferentes estructura radicales) acelera el proceso de descompactación.

Actualmente la emisión de GEI como el N_2O presenta elevada relevancia político-económica para nuestro país. Argentina es un productor y exportador de *commodities* y biodiesel de soja. Las medidas impuestas sobre este cultivo por la Unión Europea y sus estados miembros afectan la importación y comercialización del cultivo de soja desde países como el nuestro. Esto ocurre, mediante las Directivas 2009/30/CE y 98/70/CE del Parlamento Europeo a partir de las cuales se introduce un mecanismo para controlar y reducir la emisión de GEI, que incluyen la contabilización de la emisión de N_2O a partir del cultivo de soja (European Commission, 2013). El conocimiento generado en la presente Tesis, si bien preliminar, puede servir como información a tener en cuenta en las negociaciones diplomáticas ante la Unión Europea y la Organización Mundial del Comercio (OMC).

6.5 Futuras líneas de investigación

Si bien nuestros resultados muestran mayor emisión de N_2O desde los suelos con residuo en superficie, ensayos de largo plazo muestran que puede suceder lo contrario. Por este motivo, resultaría interesante la realización en el futuro de un ensayo similar al realizado en el Capítulo 5, pero llevado a cabo bajo condiciones de campo y con una mayor duración, a fin de evaluar el comportamiento de los sistemas de labranza en suelos pampeanos a corto, mediano y largo plazo. También sería interesante evaluar el rol de la materia orgánica del suelo, particularmente la lábil, como variable reguladora de la emisión de N_2O (Helgason et al., 2005).

La inclusión de nuestros datos actuales y futuros a modelos de simulación sería una interesante opción para ampliar y ajustar los valores umbral obtenidos a partir de la generación del árbol de regresión.

Bibliografía

- AAPRESID. 2014. Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa. http://www.aapresid.org.ar/images/cms/assets/docs/aapresid.evolucion_sd_en_argentina_2009.pdf. Acceso: 1/4/2014.
- Akiyama, H., Tsuruta, H. y Watanabe, T. 2000. N₂O and NO emissions from soils after the application of different chemical fertilizers. *Chemosphere - Global Change Science* 2: 313-320.
- Al-Kaisi, M.M. y Guzman, J.G. 2013. Effects of tillage and nitrogen rate on decomposition of transgenic Bt and near-isogenic non-Bt maize residue. *Soil and Tillage Research* 129: 32-39.
- Almaraz, J.J., Zhou, X., Mabood, F., Madramootoo, C., Rochette, P., Ma, B.-L. y Smith, D.L. 2009. Greenhouse gas fluxes associated with soybean production under two tillage systems in southwestern Quebec. *Soil and Tillage Research* 104: 134-139.
- Alvarez, C.R., Taboada, M.A., Bustingorri, C. y Gutierrez Boem, F.H. 2006. Descompactación de suelos en siembra directa: efectos sobre las propiedades físicas y el cultivo de maíz. *Ciencia del Suelo* 24: 1-10.
- Alvarez, C.R., Taboada, M.A., Gutierrez Boem, F.H., Bono, A., Fernandez, P.L. y Prystupa, P. 2009. Topsoil properties as affected by tillage systems in the rolling pampa region of Argentina. *Soil Science Society of America Journal* 73: 1242-1250.
- Alvarez, C., Costantini, A., Alvarez, C.R., Alves, B.R., Jantalia, C.P., Martellotto, E.E. y Urquiaga, S. 2012. Soil nitrous oxide emissions under different management practices in the semiarid region of the Argentinian Pampas. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 94: 209-220.
- Alvarez, C.R., Taboada, M.A., Perelman, S. y Morrás, H.J.M. 2014. Topsoil structure in no-tilled soils in the Rolling Pampa, Argentina. *Soil Research* 52: 533-542.
- Alves, B.J.R., Smith, K.A., Flores, R.A., Cardoso, A.S., Oliveira, W.R.D., Jantalia, C.P., Urquiaga, S. y Boddey, R.M. 2012. Selection of the most suitable sampling time for static chambers for the estimation of daily mean N₂O flux from soils. *Soil Biology and Biochemistry* 46: 129-135.
- Ambus, P. 2005. Relationship between gross nitrogen cycling and nitrous oxide emission in grass-clover pasture. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 72: 189-199.
- Aulakh, M.S., Walters, D.T., Doran, J.W., Francis, D.D. y Mosier, A.R. 1991. Crop residue type and placement effects on denitrification and mineralization. *Soil Science Society of America Journal* 55: 1020-1025.
- Aulakh, M.S., Doran, J.W. y Mosier, A.R. 1992. Soil denitrification—significance, measurement, and effects of management. *Advances in Soil Science*. Stewart, BA, Springer New York 18:1-57.
- Austin, A.T., Araujo, P.I. y Leva, P.E. 2009. Interaction of position, litter type, and water pulses on decomposition of grasses from the semiarid Patagonian steppe. *Ecology* 90: 2642-2647.
- Baggs, E.M., Rees, R.M., Smith, K.A. y Vinten, A.J.A. 2000. Nitrous oxide emission from soils after incorporating crop residues. *Soil Use and Management* 16: 82-87.

- Baggs, E.M., Stevenson, M., Pihlatie, M., Regar, A., Cook, H. y Cadisch, G. 2003. Nitrous oxide emissions following application of residues and fertiliser under zero and conventional tillage. *Plant and Soil* 254: 361-370.
- Baker, T.T.I., Lockaby, B.G., Conner, W.H., Meier, C.E., Stanturf, J.A. y Burke, M.K. 2001. Leaf litter decomposition and nutrient dynamics in four Southern forested floodplain communities. *Science Society of America Journal* 65: 1334-1347.
- Bartelt-Hunt, S.L. y Smith, J.A. 2002. Measurement of effective air diffusion coefficients for trichloroethene in undisturbed soil cores. *Journal of Contaminant Hydrology* 56: 193-208.
- Bateman, E.J. y Baggs, E.M. 2005. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biology and Fertility of Soils* 41: 379-388.
- Berisso, FE; P Schjønning; T Keller; M Lamandé; A Etana; LW de Jonge; BV Iversen; J Arvidsson y J Forkman. 2012. Persistent effects of subsoil compaction on pore size distribution and gas transport in a loamy soil. *Soil and Tillage Research* 122: 42-51.
- Blackmer, A.M., Robbins, S.G. y Bremner, J.M. 1982. Diurnal variability in rate of emission of nitrous oxide from soils. *Soil Science Society of America Journal* 46: 937-942.
- Blagodatsky, S. y Smith, P. 2012. Soil physics meets soil biology: Towards better mechanistic prediction of greenhouse gas emissions from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 47: 78-92.
- Blake, C.R. 1965. Bulk density. Pp. 374-390. en Black, C. A. (ed.) *Methods of soil Analysis. I. Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling.*
- Bogino, P., Nievas, F., Banchio, E. y Giordano, W. 2011. Increased competitiveness and efficiency of biological nitrogen fixation in peanut via in-furrow inoculation of rhizobia. *European Journal of Soil Biology* 47: 188-193.
- Bolliger, A., Magid, J., Amado, T.J.C., Neto, F.S., de Faima dos Santos Ribeiro, M., Calegari, A., Ralisch, R. y de Neergaard, A. 2006. Taking stock of the Brazilian "zero-till revolution": A review of landmark research and farmers. *Advances in Agronomy* 91: 47-109.
- Bonel, B.A., Morrás, H.J.M. y Bisaro, V. 2005. Modificaciones de la microestructura y la materia orgánica en un Argiudol bajo distintas condiciones de cultivo y conservación. *Ciencia del Suelo* 23: 1-12.
- Bracmort, K. 2010. Nitrous Oxide from Agricultural Sources: Potential Role in Greenhouse Gas Emission Reduction and Ozone Recovery. Congressional Research Service: <http://nationalaglawcenter.org/wp-content/uploads/assets/crs/R40874.pdf>. Acceso: 1/1/2015.
- Burgess, M.S., Mehuys, G.R. y Madramootoo, C.A. 2002. Decomposition of grain-corn residues (*Zea mays* L.): A litterbag study under three tillage systems. *Canadian Journal of Soil Science* 82: 127-138.
- Butterbach-Bahl, K., Breuer, L., Gasche, R., Willibald, G. y Papen, H. 2002. Exchange of trace gases between soils and the atmosphere in Scots pine forest ecosystems of the northeastern German lowlands: 1. Fluxes of N₂O, NO/NO₂ and CH₄ at forest sites with different N-deposition. *Forest Ecology and Management* 167: 123-134.
- Castaldi, S. 2000. Responses of nitrous oxide, dinitrogen and carbon dioxide production. and oxygen consumption to temperature in forest and agricultural

- light-textured soils determined by model experiment. *Biology and Fertility of Soils* 32: 67-72.
- Castiglioni, M.G.; H.J.M. Morrás y Santanatoglia, O.J. 2005. Influencia de la organización y composición del espacio poroso y la matriz en la dinámica hídrica de distintos argiudoles de la Pampa Ondulada. Tesis de Maestría. Escuela para Graduados de la Facultad de agronomía de la UBA. 17-19.
- Cavigelli, M.A. y Robertson, G.P. 2001. Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 297-310.
- Chao, C.-C., Young, C.-C., Wang, Y.-P. y Chao, W.-L. 2000. Daily and seasonal nitrous oxide fluxes in soils from hardwood forest and different agroecosystems of Taiwan. *Chemosphere - Global Change Science* 2: 77-84.
- Chapuis-Lardy, L., Wrage, N., Metay, A., Chotte, J-L. y Bernoux, M. 2007. Soils, a sink for N₂O? A review. *Global Change Biology* 13: 1-17.
- Christensen, B.T. 1986. Barley straw decomposition under field conditions: Effect of placement and initial nitrogen content on weight loss and nitrogen dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 18: 523-529.
- Ciampitti, I.A., Conti, M.E. y Ciarlo, E. 2008. Nitrous oxide emissions from soil during soybean *Glycine max (L.) Merrill* crop phenological stages and stubbles decomposition period. *Biology and Fertility of Soils* 44: 581-588.
- Clayton, H., McTaggart, I.P., Parker, J., Swan, L. y Smith, K.A. 1997. Nitrous oxide emissions from fertilised grassland: A 2-year study of the effects of N fertiliser form and environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 25: 252-260.
- Clough, T.J., Jarvis, S.C., Dixon, E.R., Stevens, R.J., Laughlin, R.J. y Hatch, D.J. 1999. Carbon induced subsoil denitrification of 15N-labelled nitrate in 1 m deep soil columns. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 31-41.
- Clough, T.J., Sherlock, R.R. y Rolston, D.E. 2005. A review of the movement and fate of N₂O in the subsoil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 72: 3-11.
- Conrad, R. 1996. soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O and NO). *Microbiological Reviews* 60: 609-640.
- Cosentino, V.R.N., Figueiro Aureggui, S.A. y Taboada, M.A. 2013. Hierarchy of factors driving N₂O emissions in non-tilled soils under different crops. *European Journal of Soil Science* 64: 550-557.
- Curtin, D. y Francis, G.S., 2008. Decomposition rate of cereal straw as affected by soil placement. *Soil Research* 46, 152-160.
- Dalal, R.C., Wang, W., Robertson, G.P. y Parton, W.J. 2003. Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: a review. *Australian Journal of Soil Research* 41: 165-195.
- Dalal, R.C., Gibson, I., Allen, D.E. y Menzies, N.W. 2010. Green waste compost reduces nitrous oxide emissions from feedlot manure applied to soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 136: 273-281.
- Davidson, E.A. 1991. Fluxes of nitrous oxide and nitric oxide from terrestrial ecosystems. Pp. 219-235 en Rogers, J.E. y Whitman, W.B. (eds.) *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrógeno oxides, and halomethanes*.
- Davidson, E.A. 2009. The contribution of manure and fertilizer nitrogen to atmospheric nitrous oxide since 1860. *Nature Geoscience* 2: 659-662.
- Davidson, E.A. 2012. Representative concentration pathways and mitigation scenarios for nitrous oxide. *Environmental Research Letters* 7: 024005.

- De Battista, J.J., Pecorari, C. y Albrecht, R. 2005. Evaluación del estado estructural de suelos con agricultura continua en siembra directa, en: Indicadores de calidad de suelos. Boletín Técnico 4. Estación Experimental Agropecuaria General Villegas: 31-39.
- Del Grosso, S.J., Wirth, T., Ogle, S.M. y Parton, W.J. 2008. Estimating agricultural nitrous oxide emissions. *Eos, Transactions American Geophysical Union* 89: 529-529.
- Denmead, O.T., Freney, J.R. y Simpson, J.R. 1979. Studies of nitrous oxide emission from a grass sward. *Soil Science Society of America Journal* 43: 726-728.
- Derpsch, R. y T. Friedrich. 2010. Conservation Agriculture Adoption Worldwide. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/ca/6c.html>. Acceso: 29/1/2015.
- di Marco, C., Skiba, U., Weston, K., Hargreaves, K. y Fowler, D. 2004. Field scale N₂O flux measurements from grassland using eddy covariance. *Water, Air, and Soil Pollution* 4: 143-149.
- Díaz-Zorita, M. y Grove, J.H. 2002. Duration of tillage management affects carbon and phosphorus stratification in phosphatic Paleudalfs. *Soil and Tillage Research* 66: 165-174.
- Dobbie, K.E. y Smith, K.A. 2001. The effects of temperature, water-filled pore space and land use on N₂O emissions from an imperfectly drained gleysol. *European Journal of Soil Science* 52: 667-673.
- Dobbie, K.E. y Smith, K.A. 2003. Nitrous oxide emission factors for agricultural soils in Great Britain: The impact of soil water-filled pore space and other controlling variables. *Global Change Biology* 9: 204-218.
- Dobbie, K.E., McTaggart, I.P. y Smith, K.A. 1999. Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems: Variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *Journal of Geophysical Research* 104: 26891-26899.
- Domínguez, G.F., Diovisalvi, N.V., Studdert, G.A. y Monterubbianesi, M.G. 2009. Soil organic C and N fractions under continuous cropping with contrasting tillage systems on mollisols of the southeastern Pampas. *Soil and Tillage Research* 102: 93-100.
- Du, R., Lu, D. y Wang, G. 2006. Diurnal, seasonal, and inter-annual variations of N₂O fluxes from native semi-arid grassland soils of inner Mongolia. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 3474-3482.
- European Commission. 2013. Assessing GHG default emissions from biofuels in EU legislation. JRC Scientific and Policy Reports. Review of the input database to calculate 'Default GHG emissions', following expert consultation, 22-23 November 2011, Ispra (Italy).
- Farquharson, R. y Baldock, J. 2008. Concepts in modelling N₂O emissions from land use. *Plant and Soil* 309: 147-167.
- Fehr, W.R. y Caviness, C.E. 1977. Stages of soybean development. Special Report 80 Iowa State University, Ames, Iowa. 11p.
- Fen, C.S., Huang, Y. y Chen, J.L. 2009. Experimental study of gas transport parameters in unsaturated silica flour. *Vadose Zone Journal* 8: 373-382.
- Fierer, N. y Schimel, J.P. 2002. Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 777-787.
- Firestone, M.K. y Davidson, E.A. 1989. Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil. Pp. 7-21 en Andreae, M.O. y Schimel, D.S. (eds.) Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the

- atmosphere: report of the Dahlem workshop on exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere..
- Ghosh, S., Majumdar, D. y Jain, M.C. 2002. Nitrous oxide emissions from *kharif* and *rabi* legumes grown on an alluvial soil. *Biology and Fertility of Soils* 35: 473-478.
- Glatzel, S. y Stahr, K. 2001. Methane and nitrous oxide exchange in differently fertilised grassland in southern Germany. *Plant and Soil* 231: 21-35.
- Glinski, J. y Stepniewski, W. 1985. *Soil aeration and Its Role for Plants*. CRC Press. Boca Raton, Florida: 138.
- Glossary of Soil Science Terms. 2014. <https://www.soils.org/publications/soils-glossary>. Acceso: 1/4/2014.
- Gobierno Argentino. 2007. Segunda comunicación nacional de la república Argentina a la convención marco de las naciones unidas sobre cambio climático. El cambio climático en la Argentina. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. <http://unfccc.int/resource/docs/natc/argnc2s.pdf>. Acceso: 1/4/2014.
- Gul, S. y Whalen, J. 2013. Plant life history and residue chemistry influences emissions of CO₂ and N₂O from soil – perspectives for genetically modified cell wall mutants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32: 344-368.
- Hamza, M.A. y Anderson, W.K. 2005. Soil compaction in cropping systems A review of the nature, causes and possible solutions. *Soil and Tillage Research* 82: 121-145.
- Hang, S., Rampoldi, E.A. y Negro, G.J. 2011. Herbicide behavior in relation to soil management. Cap. 3. En: “Herbicides: Properties, Crop Protection and Environmental Hazards” NOVA Publishers. https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=16946. Acceso: 01/06/2011.
- Hauggaard-Nielsen, H. y Jensen, E.S. 2001. Evaluating pea and barley cultivars for complementarity in intercropping at different. *Field Crops Research* 72: 185-196.
- Helgason, B.L., Janzen, H.H., Chantigny, M.H., Drury, C.F., Ellert, B.H., Gregorich, E.G., Lemke, R.L., Pattey, E., Rochette, P. y Wagner-Riddle, C. 2005. Toward improved coefficients for predicting direct N₂O emissions from soil in Canadian agroecosystems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 72: 87-99.
- Hessen, D.O., Ågren, G.I., Anderson, T.R., Elser, J.J. y De Ruiter, P.C. 2004. Carbon sequestration in ecosystems: the role of stoichiometry. *Ecology* 85: 1179-1192.
- Hill, R.L., Horton, R. y Cruse, R.M. 1985. Tillage effects on soil water retention and pore size distribution of two mollisols. *Soil Science Society of America Journal* 49(5): 1264-1270.
- Huang, Y., Zou, J., Zheng, X., Wang, Y. y Xu, X. 2004. Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 973-981.
- Hutchinson, G.L. y Livingston, G.P. 2001. Vents and seals in non-steady-state chambers used for measuring gas exchange between soil and the atmosphere. *European Journal of Soil Science* 52: 675-682.
- Hutchinson, G.L. y Livingston, G.P. 2002. Soil-atmosphere gas exchange. *Methods of Soil Analysis, Part 4, SSSA BOOK SERIES:5*: 1159-1182.
- INDEC. 2014. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. <https://www.indec.gov.ar>. Acceso: 1/4/2014.
- InfoStat. 2010. InfoStat Versión 2010 Software (Córdoba, Argentina): Universidad Nacional de Córdoba, Fac. de Cs. Agropecuarias. Grupo InfoStat.

- INTA. 2014. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <http://anterior.inta.gov.ar/suelos/cartas/>. Acceso: 1/4/2014.
- IPCC. 1996. Revised 1996 Guidelines for national Greenhouse Gas Inventories. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs1.html>. Acceso: 1/6/2015.
- IPCC. 2001. Climate Change: THE SCIENTIFIC BASIS. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Published for the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press.
- IPCC. 2006. Guidelines for national greenhouse gas inventories. Volume 4. Agriculture, forestry and other land use <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4html>.
- IPCC. 2007. Climate change 2007. Sintesis Report. An Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change. WMO-UNEP. Geneve.
- Jackson, M.L. 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Jantalia, C.P., dos Santos, H.P., Urquiaga, S., Boddey, R.M. y Alves, B.J.R. 2008. Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 82: 161-173.
- Jensen, E.S. 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 65-71.
- Jensen, L.S., Salo, T., Palmason, F., Breland, T.A., Henriksen, T.M., Stenberg, B., Pedersen, A., Lundström, C. y Esala, M. 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant and Soil* 273: 307-326.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B.J.R. y Morrison, M.J. 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. *A review. Agronomy for Sustainable Development* 32: 329-364.
- Kaiser, E.A., Kohrs, K., Kücke, M., Schnug, E., Heinemeyer, O. y Munch, J.C. 1998. Nitrous oxide release from arable soil: Importance of N-fertilization, crops and temporal variation. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1553-1563.
- Keeney, D.R. y Nelson, D.W. 1982. Nitrogen-Inorganic Forms. *Methods of Soil Analysis, Part 2*. Page, AL, RH Miller and DR Keeney. Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy - Soil Science Society of America 643-698.
- Keeney, D.R., Fillery, I.R. y Marx, G.P. 1979. Effect of temperature on the gaseous nitrogen products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Science Society of America Journal* 43: 1124-1128.
- Khalil, M.I., Hossaina, M.B. y Schmidhalter, U. 2005. Carbon and nitrogen mineralization in different upland soils of the subtropics treated with organic materials. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1507-1518.
- Lachniet, S.L., Hendrix, P.F., Potter, R.L., Coleman, D.C. y Crossley, D.A.Jr. 2004. Winter decomposition of transgenic cotton residue in conventional-till and no-till systems. *Applied Soil Ecology* 27: 135-142.
- Lal, R., Reicosky, D.C. y Hanson, J.D. 2007. Evolution of the plow over 10000 years and the rationale for no till farming. *Soil and Tillage Research* 93: 1-12.
- Lal, R., Delgado, J.A., Groffman, P.M., Millar, N., Dell, C. y Rotz, A. 2011. Management to mitigate and adapt to climate change. *Journal of Soil and Water Conservation* 66: 276-285.
- Laville, P., Lehuger, S., Loubet, B., Chaumartin, F. y Cellier, P. 2011. Effect of management, climate and soil conditions on N₂O and NO emissions from an

- arable crop rotation using high temporal resolution measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 151: 228-240.
- Li, C., Aber, J., Stange, F., Butterbach-Bahl, K. y Papen, H. 2000. A process-oriented model of N₂O and NO emissions from forest soils: 1. Model development. *Journal of Geophysical Research* 105: 4369-4384.
- Lindau, C.W. y DeLaune, R.D. 1991. Dinitrogen and nitrous oxide emission and entrapment in *Spartina alterniflora* saltmarsh soils following addition of N-15 labelled ammonium and nitrate. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 32: 161-172.
- Linn, D.M. y Doran, J.W. 1984. Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Science Society of America Journal* 48: 1267-1272.
- Liu, Y.T., Li, Y.E., Wan, Y.F., Chen, D.L., Gao, Q.Z., Li, Y. y Qin, X.B. 2011. Nitrous oxide emissions from irrigated and fertilized spring maize in semi-arid northern China. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 141: 287-295.
- Lupwayi, N.Z. y Kennedy, A.C. 2007. Grain legumes in northern great plains: Impacts on selected biological soil processes. *Agronomy Journal* 99: 1700-1709.
- Maljanen, M., Virkajärvi, P., Hytönen, J., Öquist, M., Sparrman, T. y Martikainen, P.J. 2009. Nitrous oxide production in boreal soils with variable organic matter content at low temperature – snow manipulation experiment. *Biogeosciences* 6: 2461-2473.
- Markus, D.K., McKinnon, J.P. y Buccafuri, A.F. 1985. Automated analysis of nitrite, nitrate and ammonium nitrogen in soils. *Soil Science Society of America Journal* 49: 1208-1215.
- Martens, D.A., Jaynes, D.B., Colvin, T.S., Kaspar, T.C. y Karlen, D.L. 2006. Soil organic nitrogen enrichment following soybean in an Iowa corn-soybean rotation. *Soil Science Society of America Journal* 70: 382-392.
- Materechera, S.A., Kirby, J.M., Alston, A.M. y Dexter A.R. 1994. Modification of soil aggregation by watering regime and roots growing through beds of large aggregates. *Plant and Soil*, 160: 57-66
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E.S., Schlöter, M. y Heß, J. 2003. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process. *Plant and Soil* 255: 541-554.
- McClain, M.E., Boyer, E.W., Dent, C.L., Gergel, S.E., Grimm, N.B., Groffman, P.M., Hart, S.C., Harvey, J.W., Johnston, C.A., Mayorga, E., McDowell, W.H. y Pinay, G. 2003. Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. *Ecosystems* 6: 301-312.
- McSwiney, C.P. y Robertson, G.P. 2005. Nonlinear response of N₂O flux to incremental fertilizer addition in a continuous maize *Zea mays* L. cropping system. *Global Change Biology* 11: 1712-1719.
- Micucci, F.G. y Taboada, M.A. 2006. Soil physical properties and soybean *Glycine max*, *Merrill* root abundance in conventionally- and zero-tilled soils in the humid Pampas of Argentina. *Soil and Tillage Research* 86: 152-162.
- MINAGRI. 2013. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Plan estratégico agroalimentario y agroindustrial participativo y federal 2010-2016. <http://64.76.123.202/site/areas/PEA2/index.php>. Acceso: 14/4/2014.
- Miñarro, F. y Bilenca, D. 2008. The conservation status of temperate grasslands in central Argentina. Special report. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos

Aires. http://awsassets.wwfar.panda.org/downloads/conservation_status_temperate_grasslands.pdf. Acceso: 2/2/2015.

- Moe, S.J., Stelzer, R.S., Forman, M.R., Harpole, W.S., Daufresne, T. y Yoshida, T. 2005. Recent advances in ecological stoichiometry: insights for population and community ecology. *Oikos* 109: 29-39.
- Morgan, J.N. y Sonquist, J.A. 1963. Problems in the analysis of survey data, and a proposal. *Journal of the American Statistical Association* 58: 415-434.
- Mosier, A.R., Halvorson, A.D., Reule, C.A. y Liu, X.J. 2006. Net global warming potential and greenhouse gas intensity in irrigated croppig systems in northeastern Colorado. *Journal of Environmental Quality* 35: 1584-1598.
- Muhammad, W., Vaughan, S., Dalal, R. y Menzies, N. 2011. Crop residues and fertilizer nitrogen influence residue decomposition and nitrous oxide emission from a Vertisol. *Biology and Fertility of Soils* 47: 15-23.
- Nawaz, M., Bourrié, G. y Trolard, F. 2013. Soil compaction impact and modelling. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 33: 291-309.
- Parr, J.F. y Papendick, R.I. 1978. Factors affecting the decomposition of crop residues by microorganisms. Pp. 101-129 en Oschwald, W.R. (Ed.) *Crop Residue Management Systems*.
- Pérez-Ramírez, J. 2007. Prospects of N₂O emission regulations in the European fertilizer industry. *Applied Catalysis B: Environmental* 70: 31-35.
- Powlson, D.S., Stirling, C.M., Jat, M.L., Gerard, B.G, Palm, C.A., Sanchez, P.A. y Cassman, K.G. 2014. Limited potential of no-till agriculture for climate change mitigation. *Nature Climate Change* 4: 678-683.
- Ritchie, S.W. y Hanway, J.J. 1982. How a corn plant develops. Iowa State University. Special Report 48.
- Robertson, G.P. y Groffman P. 2007. Nitrogen transformations. Pp. 341-64 em Paul, E.A. (ed.) *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*.
- Rochette, P. 2010. Soil N₂O emissions. Possible refinements to the IPCC 2006 Guidelines. Presentado en IPCC Expert Meeting on HWP, Wetlands and Soil N₂O. Ginebra, octubre de 2010.
- Rochette, P. y Janzen, H. 2005. Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 73: 171-179.
- Rochette, P. y Eriksen-Hamel, N.S. 2008. Chamber measurements of soil nitrous oxide flux: are absolute values reliable? *Soil Science Society of America Journal* 72: 331-342.
- Rochette, P., Angers, D.A., Belanger, G., Chantigny, M.H., Prevost, D. y Levesque, G. 2004. Emissions of N₂O from alfalfa and soybean crops in Eastern Canada. *Soil Science Society of America Journal* 68: 493-506.
- Ryden, J.C. 1981. N₂O exchange between a grassland soil and the atmosphere. *Nature* 292: 235-237
- Ryden, J.C., Lund, L.J. y Focht, D.D. 1978. Direct in-field measurement of nitrous oxide flux from soils. *Soil Science Society of America Journal* 42: 731-737.
- Salazar Lea Plaza, J.C. y Moscatelli, G. 1989. Mapa de Suelos de la Provincia de Buenos Aires. Escala 1:500000. SAGyP - INTA, Buenos Aires, Argentina. 527 p.
- Sasal, M.C., Andriulo, A.E. y Taboada, M.A. 2006. Soil porosity characteristics and water movement under zero tillage in silty soils in Argentinian Pampas. *Soil and Tillage Research* 87: 9-18.
- Satorre, E.H. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15: 24-31.

- Schindlbacher, A. y Zechmeister-Boltenstern, S. 2004. Effects of soil moisture and temperature on NO, NO₂, and N₂O emissions from European forest soils. *Journal of Geophysical Research* 109: D17302.
- Schnurr-Pütz, S., Bååth, E., Guggenberger, G., Drake, H.L. y Küsel, K. 2006. Compaction of forest soil by logging machinery favours occurrence of prokaryotes. *FEMS Microbiology Ecology* 58: 503-516.
- Scholes, M.C., Martin, R., Scholes, R.J., Parsons, D. y Winstead, E. 1997. NO and N₂O emissions from savanna soils following the first simulated rains of the season. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 48: 115-122.
- Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. 2014. <http://www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=6070>. Acceso: 1/1/2015.
- Semmartin, M., Garibaldi, L. y Chaneton, E. 2008. Grazing history effects on above- and below-ground litter decomposition and nutrient cycling in two co-occurring grasses. *Plant and Soil* 303: 177-189.
- Seneviratne, G. 2000. Litter quality and nitrogen release in tropical agriculture: a synthesis. *Biology and Fertility of Soils* 31: 60-64.
- Sexstone, A.J., Parkin, T.B. y Tiedje, J.M. 1985. Temporal response of denitrification rates to rainfall and irrigation. *Soil Science Society of America Journal* 49: 99-103.
- Sey, B., Manceur, A., Whalen, J., Gregorich, E. y Rochette, P. 2010. Root-derived respiration and nitrous oxide production as affected by crop phenology and nitrogen fertilization. *Plant and Soil* 326: 369-379.
- Shan, J. y Yan, X. 2013. Effects of crop residue returning on nitrous oxide emissions in agricultural soils. *Atmospheric Environment* 71: 170-175.
- Shcherbak, I. y Robertson, G.P. 2014. Determining the diffusivity of nitrous oxide in soil using in situ tracers. *Soil Science Society of America Journal* 78: 79-88.
- Shelton, D.R., Sadeghi, A.M. y McCarty, G.W. 2000. Effect of soil water content on denitrification during cover crop decomposition. *Soil Science* 165: 365-371.
- Siddique, K.M., Johansen, C., Turner, N., Jeuffroy, M.-H., Hashem, A., Sakar, D., Gan, Y. y Alghamdi, S. 2012. Innovations in agronomy for food legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 45-64.
- Sistema de Información y Gestión Agrometeorológico, INTA. 2014. <http://siga2.inta.gov.ar/en/estadistica>. Acceso: 1/12/2014.
- Six, J., Ogle, S.M., Breidt, F.J., Conant, R.T., Mosier, A.R. y Paustian, K. 2004. The potencial to mitigate global warming with no-tillage management is only realized when practised in the long term. *Global Change Biology* 10: 155-160.
- Smith, K.A., Thomson, P.E., Clayton, H., McTaggart, I.P. y Cenen, F. 1998. Effects of temperature, water content and nitrogen fertilisation on emissions of nitrous oxide by soil. *Atmospheric Environment* 32: 3301-3309.
- Smith, K.A., Ball, T., Conen, F., Dobbie, K.E., Massheder, J. y Rey, A. 2003. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: interactions of soil physical factors and biological processes. *European Journal of Soil Science* 54: 779-791.
- Snyder, C.S., Bruulsema, T.W., Jensen, T.L. y Fixen, P.E. 2009. Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 133: 247-266.
- Soane, B.D. y van Ouwerkerk, C. 1995. Implications of soil compaction in crop production for the quality of the environment. *Soil and Tillage Research* 35: 5-22.
- Soil Quality Institute. 1999. Soil quality test kit guide. NRCS Soil Quality Institute, Auburn, AL.

- Somasegaran, P. y Hoben, H.J. 1985. Methods in Legume-Rhizobium Technology. NifTAL Project, University of Hawaii, Maui, Hawaii. 367 p.
- Soriano, A., León, R.J.C., Sala, O.E., Lavado, R.S., Deregibus, V.A., Cauhépé, M.A., Scaglia, O.A., Velázquez, C.A. y Lemcoff, J.H. 1991. Río de la Plata grasslands Pp. 367-407 en Coupland, R.T. (ed.). Ecosystems of the world.
- Steenwerth, K. y Belina, K.M. 2008. Cover crops and cultivation: Impacts on soil N dynamics and microbiological function in a Mediterranean vineyard agroecosystem. *Applied Soil Ecology* 40: 370-380.
- Steinbach, H.S. y Alvarez, R. 2006. Changes in soil organic carbon contents and nitrous oxide emissions after introduction of no-till in Pampean agroecosystems. *Journal of Environmental Quality* 35: 3-13.
- Sterner, R., Elser, J. y Hessen, D. 1992. Stoichiometric relationships among producers, consumers and nutrient cycling in pelagic ecosystems. *Biogeochemistry* 17: 49-67.
- Taboada, M.A. y Panuska, E.N. 1985. Evolución del potencial redox en tres suelos del norte de la pampa deprimida. *Ciencia del Suelo* 3: 173-176.
- Taboada, M.A. y Lavado, R.S. 1986. Características del régimen ácuico de un Natracuol de la pampa deprimida. *Ciencia del Suelo* 4: 66-71.
- Taboada, M.A., Micucci, F.G., Cosentino, D.J. y Lavado, R.S. 1998. Comparison of compaction induced by conventional and zero tillage in two soils of the Rolling Pampa of Argentina. *Soil and Tillage Research* 49: 57-63.
- Taboada, M.A., Barbosa, O.A., Rodríguez, M.B. y Cosentino, D.J. 2004. Mechanisms of aggregation in a silty loam under different simulated management regimes. *Geoderma* 123: 233-244.
- Taboada, M.A., Barbosa, O.A. y Cosentino, D.J. 2008. Null creation of air-filled structural pores by soil cracking and shrinkage in silty loamy soils. *Soil Science* 173: 130-142.
- Taylor, H.M. y Brar, G.S. 1991. Effect of soil compaction on root development. *Soil and Tillage Research* 19: 111-119.
- Thomson, P.E., Parker, J.P., Arah, J.R.M., Clayton, H. y Smith, K.A. 1997. Automated soil monolith-flux chamber system for the study of trace gas fluxes. *Soil Science Society of America Journal* 61: 1323-1330.
- Trinsoutrot, I., Recous, S., Bentz, B., Lineres, M., Cheneby, D. y Nicolardot, B. 2000. Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Science Society of America Journal* 64: 918-926.
- Trumbore, S.E., Chadwick, O.A. y Amundson, R. 1996. Rapid exchange between soil carbon and atmospheric carbon dioxide driven by temperature change. *Science* 272: 393-396.
- VandenBygaart, A.J., Protz, R. y Tomlin, A.D. 1999. Changes in pore structure in a no-till chronosequence of silt loam soil, southern Ontario. *Canadian Journal of Soil Science* 79: 149-160.
- Varela, M.F., Scianca, M.C., Taboada, M.A. y Rubio, G. 2014. Cover crop effects on soybean residue decomposition and P release in no-tillage systems of Argentina. *Soil and Tillage Research* 143: 59-66.
- Venterea, R.T., Spokas, K.A. y Baker, J.M. 2009. Accuracy and precision analysis of chamber-based nitrous oxide gas flux estimates. *Soil Science Society of America Journal* 73: 1087-1093.

- Vinten, A.J.A., Davies, R., Castle, K. y Baggs, E.M. 1998. Control of nitrate leaching from a Nitrate Vulnerable Zone using paper mill waste. *Soil Use and Management* 14: 44-51.
- Walkey, A. y Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-37.
- Xunhua, Z., Yao, H., Yuesi, W., Mingxing, W., Jisheng, J. y Laotu, L. 2003. Effects of soil temperature on nitric oxide emission from a typical chinese rice-wheat rotation during the non-waterlogged period. *Global Change Biology* 9: 601-611.
- Yamulki, S. y Jarvis, S. 2002. Short-term effects of tillage and compaction on nitrous oxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, methane and carbon dioxide fluxes from grassland. *Biology and Fertility of Soils* 36: 224-231.
- Yang, L. y Cai, Z. 2005. The effect of growing soybean *Glycine max. L.* on N₂O emission from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1205-1209.
- Zapata, F., Danso, S.K.A., Hardarson, G. y Fried, M. 1987. Timecourse of nitrogen fixation in field-grown goybean using nitrogen-15 methodology. *Agronomy Journal* 79: 172-176.